



Hinc patriam sustinet

Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa



Desenvolvimento de um Queijo Fresco de Cabra com Contribuição da Fermentação Láctica

Patrícia Raquel Almeida da Silva Bandeira

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em

Engenharia Alimentar

Orientador: Doutor António Pedro Louro Martins

Co-Orientador: Doutora Suzana Ferreira Dias

Júri:

Presidente: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins. Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Maria Suzana Leitão Ferreira Dias Vicente, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutora: Maria Isabel Nunes Januário, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutor: António Pedro Louro Martins, Professor Auxiliar convidado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2010

Agradecimentos

Muitas foram as pessoas que contribuíram para que tenha chegado ao fim desta etapa da minha vida com sucesso... Mas, sem dúvida, foram os meus pais que pelo seu apoio incondicional deram o empurrão mais forte!

Ao meu namorado, que apareceu na minha vida já depois do início da minha “viagem” no Instituto Superior de Agronomia se ter iniciado, mas que foi sempre um ombro amigo e uma ajuda preciosa.

Ao meu Orientador, o Professor Doutor António Pedro Louro Martins, por ter aceite ser meu orientador e por todo o conhecimento transmitido nas várias disciplinas em que fomos cruzando. Agradeço em particular, o apoio prestado neste trabalho e a ajuda fundamental e preciosa, sem a qual não seria possível ter chegado até aqui.

À Professora Doutora Suzana Ferreira Dias, minha Co – Orientadora, pela sua ajuda no tratamento estatístico dos resultados e pelo carinho com que sempre me recebeu.

A todos os Professores do ISA que ao longo destes anos souberam transmitir os seus conhecimentos e enriqueceram a minha vida.

À queijaria Flor de Cardo, por mais uma vez me ter recebido de portas aberta e por me fazer sentir sempre “em casa”. Sem a sua colaboração este trabalho não se poderia ter realizado.

Às minhas verdadeiras amigas por terem estado sempre por perto.

A todos o meu mais sincero, Obrigada.

Resumo

Este trabalho teve por objectivo efectuar estudos prévios para o desenvolvimento de um queijo fresco a partir de leite de cabra, de pasta fina e suave, com contribuição da fermentação láctica.

Os ensaios experimentais foram delineados com base na metodologia das superfícies de resposta, contemplando dois factores de coagulação, proporções de coagulante e de fermento láctico. Estes fabricos experimentais foram acompanhados por análises físico-químicas, submetidos a um painel de provadores e ao teste de perfil de textura. O leite utilizado em cada fabrico foi também submetido a análises físico-químicas.

Os resultados físico-químicos, reológicos e sensoriais, analisados pela metodologia das superfícies de resposta e por análise em componentes principais, permitiram verificar o produto mais próximo do objectivo foi obtido para condições características da coagulação láctica, como era esperado, mas que, de certo modo, se torna inviável dado o tipo de linhas de fabrico instaladas na empresa em causa, considerando a fragilidade da coalhada. A coagulação mista, com predominância enzimática, à partida uma possível solução, mostrou-se desajustada à situação, tal como foi utilizada, pois a falta de dessoramento em cuba provocou excesso de acidificação nos moldes, durante o período de conservação estudado, conduzindo a alterações de textura e sensoriais indesejáveis.

Palavras – chave: leite de cabra, queijo fresco de cabra, coagulação láctica, coagulação enzimática.

Abstract

This work aimed to carry out preliminary studies to develop a fresh goat cheese, with contribution of lactic fermentation, having a sour taste and a spreadable and smooth paste.

The experimental tests were carried out in the “Flor de Cardo” dairy, following a Response Surface Methodology experimental design, with two milk-clotting factors, the proportions of coagulant and starter culture

The experimental trials were followed by physical-chemical analysis, and cheeses were submitted also to a panel of tasters and to the texture profile analysis.

The product closest to the aim of this work was obtained by acid coagulation, but this type of coagulation it's not viable for the kind of production lines installed in this dairy factory, considering mainly the existing equipment for moulding. The rennet coagulation based procedure, which appeared to be the right type of technology, was unsuitable given the lack of whey draining in the clotting vat, leading to an excess of whey in cheese and extensive in mould acidification, during the storage period in study.

Key words: Goat milk, fresh goat cheese, lactic acid fermentation, acid coagulation, enzymatic coagulation.

Extended Abstract

With the increase of industry competitiveness is essential to create products with higher added value which can significantly contribute to the preference in purchasing products of national origin.

The cheese quality depends on the quality of raw material and on the entire manufacture process. Therefore the manufacture of cheese should use good quality milk, concerning its composition and sanitary quality, and also follow adequate technological practices in order to achieve good cheese properties.

This work resulted from a request of the dairy industry Flor de Cardo, SA, in the perspective of diversifying their production which is now based on traditional Portuguese cheeses (Azeitão DOP cheese and ripened cheeses made from sheep and goat milk). They aim to produce a product with different flavor and paste characteristics from the mentioned products and without great changes in the existing production lines.

The main objective was to study the best combinations of technological factors that could lead to a goat cheese of sour taste, and a spreadable and smooth paste, where the lactic fermentation plays a significant role. This kind of manufacturing technology is rather unusual in our country.

The coagulation phase was selected as a major subject on this study given the essential role for the defined objectives, being crucial in shaping the texture characteristics of the paste. The experimental tests carried out in the “Flor de Cardo” dairy industry, followed the Response Surface Methodology, with two clotting factors, the proportion of coagulant and starter culture

The experimental manufacturing trials were followed by cheese physical-chemical analysis, texture profile analysis, and the products were submitted to a panel of tasters. The results were analyzed by the Response Surface Methodology, and Principal Component Analysis using the Statistica™ package, from Stasoft, Version 5, USA.

The results showed that the manufacturing technology used was not adequate for some of the combinations of coagulant and starter culture added proportions, which promoted excessive retention of whey in the product, leading to excessive in mould acidification and probably whey reincorporation and internal proteolysis. In result, the product does not maintain a proper structure and has a strong sour taste.

The results of the statistical analysis, using the response surface methodology, suggest that the cheeses with lower pH came from trials combining either low amount of coagulant and high level

of starter or high amount of coagulant and none or low starter culture level. Regarding the acidity, the higher levels were found in manufactures with the highest amount of coagulant and starter culture.

The analysis also shows that the cheeses with the highest consumer preference are produced by acid or enzymatic coagulation with low acidification post-manufacture, although the physical-chemical analysis underline that mainly enzymatic coagulation trials lead to a higher acidity than the acid coagulation. These results point out an excessive acidification in enzymatic coagulation, mainly in mould acidification.

The product closest to the aim of this work was obtained by acid coagulation, but this type of coagulation it's not viable for the kind of production lines and equipment installed in this dairy factory, considering the existing equipment for moulding. The solution may be the use of a technology based on rennet coagulation with in vat acid production contribution, which can allow the use of the existing production lines actually used for the other products.

Key words: Goat milk, fresh goat cheese, lactic acid fermentation, acid coagulation, enzymatic coagulation.

Índice Geral

| | |
|--|------------|
| AGRADECIMENTOS | II |
| RESUMO | III |
| ABSTRACT | IV |
| EXTENDED ABSTRACT | V |
| ÍNDICE GERAL | VII |
| ÍNDICE DE QUADROS | IX |
| ÍNDICE DE FIGURAS | X |
| I. INTRODUÇÃO | 1 |
| II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 1. A Produção de Queijo | 3 |
| 2. O Processo Tecnológico do Fabrico de Queijo | 4 |
| 2.1. A Coagulação | 6 |
| 2.1.1. A fracção proteica do leite | 6 |
| 2.1.2. O leite de cabra | 9 |
| 2.2. Mecanismos de Coagulação | 10 |
| 2.2.1. Coagulação por acidificação | 10 |
| 2.2.2. Coagulação enzimática | 11 |
| 2.2.3. Coagulação mista | 16 |
| III. TRABALHO EXPERIMENTAL | 18 |
| 1. Introdução | 18 |
| 2. Material e Métodos | 19 |
| 2.1. Método das Superfícies de Resposta e Delineamento Experimental..... | 19 |
| 2.1.1. Ensaio de Fabrico de Queijo | 22 |
| 2.2. Processo de Fabrico | 23 |

VII

| | | |
|---------------|--|-----------|
| 2.3. | Análises de Leite | 25 |
| 2.4. | Análises ao Queijo | 26 |
| 2.4.1. | Análises Físico-Químicas ao Queijo..... | 26 |
| 2.4.2. | Caracterização Reológica | 27 |
| i. | Caracterização Reológica de Produtos Alimentares | 27 |
| ii. | Textura e sua Determinação Instrumental | 28 |
| 2.4.3. | Análise Sensorial..... | 30 |
| 2.5. | Tratamento dos Resultados..... | 30 |
| 3. | Resultados e Discussão | 31 |
| 3.1. | Caracterização do leite | 31 |
| 3.2. | Características do queijo e tecnologia..... | 33 |
| 3.2.1. | Com um dia de conservação | 33 |
| 3.2.2. | Com 3 a 4 dias de conservação | 37 |
| 2.3. | Análise Estatística | 41 |
| 3.4.1. | Método das Superfícies de Resposta | 41 |
| 3.4.1.1. | Com 1 Dia de Conservação | 41 |
| 3.4.1.2. | Com 3 a 4 Dias de Conservação | 47 |
| 3.4.2. | Análise em Componentes Principais | 52 |
| 3.4.2.1. | Com 1 Dia de Conservação | 52 |
| 3.4.2.2. | Com 3 a 4 Dias de Conservação | 59 |
| IV. | CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS | 64 |
| V. | BIBLIOGRAFIA | 66 |
| VI. | OUTRA BIBLIOGRAFIA CONSULTADA | 70 |
| ANEXOS | | 71 |

Índice de quadros

| | |
|---|----|
| Quadro I - Vendas dos Produtos Lácteos (em milhões de euros) | 3 |
| Quadro II – Evolução do tempo de coagulação no intervalo de pH 6,7 – 6.0 | 13 |
| Quadro III - Matriz Central Compósita Rotativa (“Central Composite Rotatable Design”) codificada para dois factores X_1 e X_2 (Adaptado de: Sengo, 2008). | 20 |
| Quadro IV - Matriz Compósita Rotativa, decodificada | 22 |
| Quadro V - Quadro Resumo das análises físico – químicas efectuadas ao leite..... | 31 |
| Quadro VI - Quadro Resumo, dos valores médios, das análises físico-químicas efectuadas ao queijo, com um dia de conservação..... | 34 |
| Quadro VII - Quadro Resumo da análise sensorial, um dia após conservação | 36 |
| Quadro VIII - Quadro Resumo da análise reológica, um dia após conservação. | 36 |
| Quadro IX - Quadro resumo, dos valores médios, das análises físico-químicas efectuadas ao queijo, com 3-4 dias de conservação. | 38 |
| Quadro X - Quadro Resumo da análise sensorial, três a quatro dias após o fabrico..... | 39 |
| Quadro XI - Quadro Resumo da análise reológica, três a quatro dias após o fabrico. | 40 |
| Quadro XII – Valores dos efeitos lineares (L), quadráticos (Q) e da interacção coagulante x fermento (C x F) para os diferentes parâmetros físico – químicos analisados, com 1 dia de conservação, e respectivos valores de R^2 e $R^2_{ajustado}$ | 42 |
| Quadro XIII - Valores dos efeitos lineares (L), quadráticos (Q) e da interacção coagulante x fermento (C x F) para os diferentes parâmetros físico – químicos analisados, com 3 a 4 dia de conservação, e respectivos valores de R^2 e $R^2_{ajustado}$ | 48 |
| Quadro XIV - Percentagem da variância explicada pelas três primeiras componentes principais, para os resultados obtidos após um dia após conservação. | 53 |
| Quadro XV – Correlação das variáveis iniciais com as três primeiras componentes principais (CP_1 , CP_2 , CP_3) para 1 dia de conservação. | 54 |
| Quadro XVI - Percentagem da variância explicada pelas três primeiras componentes principais, para os resultados obtidos após 3-4 dias após conservação. | 60 |
| Quadro XVII - Correlação das variáveis iniciais com as três primeiras componentes principais (CP_1 , CP_2 , CP_3), para 3 a 4 dias de conservação..... | 60 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Esquema Genérico do Processo Tecnológico de Fabrico de queijo | 4 |
| Figura 2 – Esquema de ligação entre duas submicelas por meio do fosfato de cálcio. (Fonte: Schmidt, 1982)..... | 7 |
| Figura 3 - Diagrama esquemático do ataque às micelas de caseína (Fonte: Dalgleish, 1993). | 12 |
| Figura 4 - Influência do pH sobre a firmeza máxima da coalhada e a velocidade de agregação micelar (Fonte: Brule, G.; Lenoir, J., 1987). | 14 |
| Figura 5 - Curvas de evolução da firmeza do gel obtido a partir dos leites de vaca, cabra e ovelha (Fonte: Lenoir <i>et al</i> , 1997). | 14 |
| Figura 6 - Modelos de obtenção de coalhadas predominantemente lácticas e predominantemente enzimáticas (adaptado de: Gaucheron <i>et al</i> , 2004). | 16 |
| Figura 7 - “Central Composite Rotatable Design” para dois factores X_1 e X_2 | 21 |
| Figura 8 - Formação de camada de soro livre à superfície da coalhada. | 24 |
| Figura 9 - Queijos após prensagem por gravidade | 24 |
| Figura 10 - Diagrama de Fabrico dos Ensaio Realizados | 25 |
| Figura 11 - Representação Esquemática do Texturograma | 29 |
| Figura 12 - Superfície de Resposta relativa à variável pH e respectiva projecção, um dia após conservação. | 44 |
| Figura 13 - Superfície de Resposta relativa à variável acidez e respectiva projecção, um dia após conservação. | 46 |
| Figura 14 - Superfície de Resposta relativa à variável pH, 3 a 4 dias após conservação | 49 |
| Figura 15 - Superfície de Resposta relativa à variável Azoto total, 3 a 4 dias após conservação. | 50 |
| Figura 16 - Superfície de Resposta relativa à variável proteína bruta, 3 a 4 dias após conservação.... | 51 |
| Figura 17 - Superfície de Resposta relativa à variável apreciação global, 3 a 4 dias após conservação. | 52 |
| Figura 18 - Representação gráfica dos valores próprios em função do número de ordem da componente principal | 53 |
| Figura 19 - Projecção das variáveis e das amostras, obtidas nos 11 fabricos e do queijo modelo, sobre o plano definido pelas duas primeiras componentes principais (resultados obtidos ao fim 1 dia de conservação). | 56 |
| Figura 20 - Projecção das variáveis e das amostras, obtidas nos 11 fabricos e do queijo modelo, sobre o plano definido pela primeira e terceira componentes principais (resultados obtidos ao fim 1 dia de conservação). | 58 |

| | |
|--|----|
| Figura 21 - Representação gráfica dos valores próprios em função do número de ordem da componente principal | 59 |
| Figura 22 - Projecção das variáveis e das amostras, obtidas nos 11 fabricos e do queijo modelo, sobre o plano definido pela primeira e terceira componentes principais (resultados obtidos ao fim 3 a 4 dia de conservação). | 62 |



I. Introdução

O fabrico de queijo é uma forma ancestral de conservar os componentes do leite (matéria gorda, proteína, e de parte do cálcio e do fósforo), um produto alimentar facilmente perecível. A produção de queijo tem como objectivo a obtenção de um produto atractivo e com maior durabilidade, no qual importantes nutrientes do leite estão concentrados. Quando o leite é transformado em queijo, a caseína (fracção proteica) e a matéria gorda são concentradas, enquanto outros componentes do leite, especialmente a água, são removidos, constituindo o soro resultante do fabrico.

O leite é um líquido fisiologicamente complexo, constituído por uma fase aquosa contínua, na qual se encontra essencialmente lactose e sais minerais, e uma fase dispersa de natureza proteica (micelas de caseína) e lipídica (glóbulos de gordura). As propriedades nutricionais, bem como a aptidão para a coagulação e fermentação, dependem muito das características físico-químicas de ambas as fases (Mahaut *et al.*, 2000).

A composição do leite de cabra, tal como o das outras espécies, varia devido a uma vasta gama de factores, como a raça, as diferenças genéticas dentro da mesma raça, a alimentação, o estado de lactação, a época do ano, o estado sanitário do animal, entre outros.

Consequentemente, a matéria-prima usada no fabrico de queijo, não é homogénea, ocorrendo em maior ou menor extensão, a modificação da percentagem em que cada constituinte entra na composição do leite. Por outro lado, é necessário ter em conta que, a obtenção e conservação do leite de cabra segue, principalmente nos pequenos produtores, procedimentos que potenciam a sua má qualidade microbiológica, e que constituem factores decisivos para o seu posterior aproveitamento.

A qualidade e o tipo de produto final obtido depende da qualidade da matéria-prima – o leite – e de todo o processo de fabrico. Consequentemente, para o fabrico de queijo deve usar-se leite de boa qualidade, tanto do ponto de vista da sua composição e aptidão para a coagulação e para a fermentação, bem como em relação à flora microbiana presente, mas não se deve desprezar as boas e correctas práticas de fabrico, as quais proporcionam as condições adequadas para que os factores presentes e desejáveis desempenhem correctamente o seu papel.

O presente trabalho resultou de uma solicitação da empresa Flor de Cardo, S.A. que, no âmbito da diversificação da sua produção, à base de produtos tradicionais portugueses (queijo de Azeitão DOP, queijo de ovelha e de cabra curados), procura um produto de sabor e características de pasta diferentes das dos produtos mencionados, sem grande alteração das linhas de fabrico e dos processos de produção que utiliza normalmente.



O objectivo essencial foi o estudo das melhores combinações de factores tecnológicos que pudessem conduzir a um queijo de sabor ácido e de pasta de características de textura adequada a ser usado como produto de barrar, uma pasta fina e suave, muito frequentemente associadas a tecnologias de fabrico pouco usuais no nosso País, nas quais fermentação láctica desempenha papel importante.

Como factor essencial para essa finalidade foi seleccionada a fase de coagulação, decisiva na determinação das características de textura da pasta, e o efeito das combinações da quantidade de coagulante e de fermento láctico a utilizar na fase de coagulação foi estudado utilizando a metodologia das superfícies de resposta.

O trabalho foi realizado nas instalações da empresa, situada em Palmela, onde foram efectuados os ensaios tecnológicos, e no Núcleo de Tecnologia do Leite e Derivados da Unidade de Investigação de Tecnologia Alimentar (UITA) do L-INIA/INRB, em cujos laboratórios se efectuaram os ensaios preliminares relacionados com a aptidão do leite para a coagulação e com os testes do fermento láctico, bem como as análises físico químicas do leite e do queijo produzido em colaboração com a queijaria

Os ensaios experimentais foram delineados com base na metodologia das superfícies de resposta e conduzidos de acordo com a matriz central compósita rotativa, considerando como factores as proporções de coagulante e de fermento láctico.



II.Revisão Bibliográfica

1. A Produção de Queijo

Como se referiu, o fabrico de queijo é, na sua essência, um processo de conservar os componentes do leite, um produto alimentar facilmente perecível, por períodos mais ou menos longos e de forma mais ou menos alterada ou modificada, fazendo uso do contributo de diferentes meios de conservação dos alimentos, como a desidratação, a acidificação ou a diminuição do pH, aspectos que compõem, no seu conjunto, aquilo que se designa por tecnologia de fabrico. (Martins, 2001).

A maior parte do leite de pequenos ruminantes produzido em Portugal, é usada para o fabrico de queijo. A transformação dos leites de cabra e ovelha é feita normalmente em unidades de pequena dimensão, as chamadas queijarias tradicionais, embora hoje existam cada vez mais unidades industriais de maior dimensão a desempenhar um papel importante neste subsector de actividade.

De acordo com os dados INA (Índice Nielsen Alimentar), os produtos lácteos totalizaram, em 2005, mais de um terço do valor das vendas de produtos alimentares, com os iogurtes, o leite de consumo e os queijos perfazem cerca de 900 milhões de euros de facturação, como é visível no quadro I.

Quadro I - Vendas dos Produtos Lácteos (em milhões de euros)

| Produtos | Vendas em valor (milhões de euros) |
|----------------------------------|---|
| Iogurte | 310 |
| Leite | 292 |
| Queijo | 291 |
| Outros leites fermentados | 110 |
| Total | 1003 |

(adaptado de GPP, 2007)

Para a preservação da competitividade empresarial, num mercado de crescente concorrência, torna-se imprescindível o aumento da oferta de produtos de maior valor acrescentado e a aposta em nichos de mercado emergentes com a diferenciação de produtos ao nível dos leites fermentados, leite líquido e queijo, podendo contribuir significativamente a preferência dos consumidores na aquisição de produtos de origem nacional.



2. O Processo Tecnológico do Fabrico de Queijo

O fabrico de queijo resulta da combinação entre a Arte e a Ciência, sendo a Ciência um instrumento ao serviço da Arte. É um processo que compreende uma série de operações, desde a produção do leite até ao último dia de maturação e expedição do produto para o mercado (Furtado, 1990).

Na produção de queijo, podem considerar-se, de um modo geral quatro fases: a coagulação, o dessoramento, a salga e, por fim, a cura. Actualmente, outras etapas, como a pasteurização, são introduzidas no processo de fabrico, com o objectivo de diminuir a variação na produção do queijo e nas suas características finais, a maior parte das quais poderão fazer parte do que se designa mais genericamente por preparação da matéria-prima.

O processo de fabrico de queijo, (Figura 1), inicia-se pela selecção de leite de boa qualidade, tanto a nível microbiológico como físico-químico. É importante ter em conta que a contaminação inicial condiciona todo o processo tecnológico de fabrico, tendo uma influência significativa nas características do produto final obtido, nomeadamente a nível do sabor, do aroma e da textura da pasta.

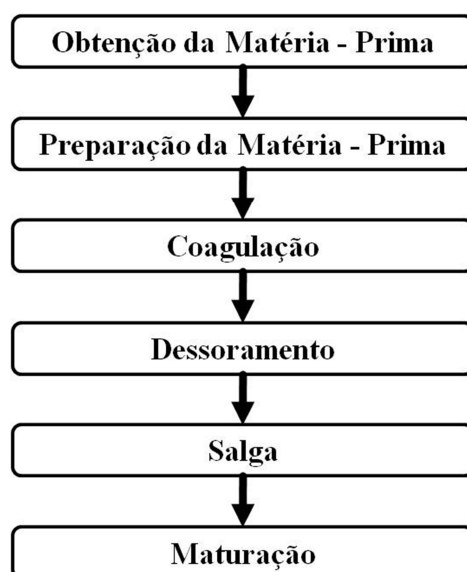


Figura 1 – Esquema Genérico do Processo Tecnológico de Fabrico de queijo

Actualmente o leite para fabrico de queijo é habitualmente arrefecido até 4°C após a ordenha e pode ser armazenado a esta temperatura por vários dias, tanto no produtor, como na unidade de transformação. Contudo, o armazenamento refrigerado do leite, mesmo que apenas por um período de 24 a 48 horas promove diversas alterações nas propriedades físico-químicas, bem como na composição, quantitativa e qualitativa da flora microbiana, favorecendo o desenvolvimento dos



microrganismos psicotróficos, os quais podem ter implicações importantes a nível da qualidade do queijo. A nível físico-químico, verificam-se essencialmente modificações na estrutura das micelas de caseína e no equilíbrio dos sais minerais, verificando-se a redução do tamanho das micelas e a sua solubilização parcial, bem como a solubilização do cálcio e do fósforo coloidal. Estas modificações traduzem-se num aumento do tempo de coagulação, obtenção de um coágulo menos firme, uma sinérese menos intensa e uma diminuição no rendimento.

A preparação da matéria – prima, tem como objectivo obter lotes de leite homogéneos, permitindo diminuir as variações nas características do produto final. Nesta etapa do processo de fabrico, podem incluir-se diversas operações, entre as quais a pasteurização e a adição de cloreto de cálcio.

A adição de cloreto de cálcio ao leite, conduz ao aumento do teor em cálcio e de fosfato de cálcio coloidal, a uma diminuição do pH e, consequentemente, a uma diminuição da estabilidade das micelas, o que favorece a actuação das enzimas do agente coagulante. Por outro lado, ocorre uma diminuição do tempo de coagulação, um aumento da firmeza do gel formado e da velocidade de agregação micelar (Brule e Lenoir, 1987).

A pasteurização do leite (72°C durante 15 segundos) é o tratamento térmico a que o leite é submetido para eliminação dos microrganismos patogénicos não esporulados, bem como os microrganismos prejudiciais ao processo de cura do queijo, proporcionando ainda alguma inactivação enzimática, resultando numa maior uniformidade da matéria-prima.

Após a etapa de preparação do leite segue-se a coagulação, durante a qual ocorrem modificações físico-químicas das micelas de caseína sob a acção de enzimas proteolíticas e/ou do ácido láctico, conduzindo à formação de uma rede proteica denominada coágulo (Brule e Lenoir, 1987).

Esta fase do processo tecnológico de fabrico de queijo, desempenha um papel determinante sobre as características do produto final. Assim, tendo em conta que este trabalho teve por objectivo o desenvolvimento de um queijo fresco de cabra, com contribuição da fermentação láctica, a coagulação é a etapa de maior relevância no processo de fabrico, sendo por isso aprofundada mais à frente no presente trabalho.

Terminado o processo de coagulação, procede-se ao dessoramento, ou seja, à separação do soro da coalhada, após ruptura mecânica do gel, de modo a conseguir um produto moldável. A quantidade de soro libertado e a facilidade dessa libertação dependem das características do gel e variam consoante o tipo de queijo que se pretende obter.

O processo de salga, pode ser efectuado de diversas formas, através da incorporação de sal na coalhada, em sólido à superfície do queijo, por imersão em salmoura ou no próprio leite. O sal tem um triplo papel, conferir um sabor característico ao queijo, favorecer a libertação do soro,



possuindo ainda um papel importante na selecção da flora microbiana no queijo e na sua evolução no processo de maturação.

A cura corresponde à etapa final do fabrico e é uma fase de digestão enzimática da coalhada. Nesta fase, verifica-se um conjunto de reacções bioquímicas complexas que modificam os diversos componentes da coalhada, obtendo-se no final um produto completamente diferente do queijo em fresco, no que se refere ao aspecto, sabor e textura.

2.1. A Coagulação

A coagulação do leite resulta das modificações físico-químicas que ocorrem ao nível da caseína, grupo de proteínas presentes em maior quantidade no leite. O leite passa do estado líquido para um estado semi-sólido (gel), designando-se este por coágulo. O coágulo é formado através de modificações induzidas por acidificação e/ou pela acção de proteases, designadas genericamente por enzimas coagulantes.

2.1.1. A fracção proteica do leite

A fracção proteica do leite é constituída pelas caseínas, que são fosfoproteínas e que representam cerca de 80% das proteínas presentes no leite, existindo as caseínas α_{s1} , α_{s2} , β e κ . Para além das caseínas, a fracção proteica do leite é ainda composta por proteínas solúveis, estando englobadas neste grupo as proteínas sintetizadas ao nível da célula mamária (α -lactoalbumina, β -lactoglobulina), e as proteínas de origem sanguínea (serumalbumina, imunoglobulinas) (Mahaut et al., 2000).

As caseínas possuem características comuns, como a presença de fósforo sob a forma de agrupamentos fosfoseril, o elevado teor de certos aminoácidos (ácido glutâmico, leucina e prolina) e a forte proporção de resíduos apolares. Diferenciam-se entre si pelo número de agrupamentos fosfoseril, pela presença de cisteína e de glúcidos, pelo seu carácter mais ou menos hidrófobo, e pelos seus teores em determinados aminoácidos (prolina e tirosina, por exemplo) (Brule e Lenoir, 1987; Mahaut *et al.*, 2000).

A presença dos grupos fosfoseril confere às caseínas grande afinidade relativamente ao cálcio. Quando estes estão presentes em grande quantidade, como sucede nas caseínas α_s e β , encontram-se agrupados, possuindo a cadeia peptídica segmentos com características muito diferentes. Resulta, assim, uma distribuição heterogénea das cargas e dos graus de hidrofobicidade existindo zonas da cadeia peptídica com carácter ácido e hidrófilo muito vincado. Estas aglomerações de cargas negativas conferem às caseínas uma das suas principais propriedades: o poder de fixação do cálcio (Brule e Lenoir, 1987).



A caseína κ distingue-se das restantes pela presença de glúcidos. Esta caseína possui uma cadeia peptídica cuja estrutura primária apresenta duas regiões com características diferentes. A componente NH_2 terminal (resíduos 1-105) apresenta um carácter básico e hidrófobo, enquanto a componente COOH terminal (resíduos 106-169) é ácida e hidrófila.

A caseína κ possui a capacidade de formar, em conjunto com as outras caseínas, complexos estáveis na presença de cálcio. É de realçar o facto de apresentar uma sensibilidade elevada à acção da quimosina ao nível da ligação Fen-Met (105-106) (Brule e Lenoir, 1987; Mahaut *et al.*, 2000).

Até este ponto falou-se da caseína como elemento individual, no entanto esta encontra-se no leite de forma organizada existindo vários modelos para a forma como esta organização é feita.

Nos modelos em que se considera a existência de subunidades, os modelos submicelares propostos por Schmidt (1982) e por Walstra (1990), as caseínas estão integradas numa estrutura maior - a micela de caseína.

A micela é composta por subunidades, designadas de submicelas, associadas entre si através do fosfato de cálcio coloidal. A estrutura destas subunidades não é uniforme, apresentando uma zona interna hidrófoba, formada pelos componentes apolares das caseínas, e uma zona externa, formando um invólucro polar, constituído pelos resíduos fosfoseril das caseínas α_{s1} , α_{s2} e β e pela componente COOH terminal da caseína κ . As submicelas agregam-se entre si por meio do cálcio e do fosfato mineral formando a micela (Figura 2). Esta agregação é favorecida pela presença de resíduos fosfoseril, situados no invólucro das submicelas, visto possuírem afinidade relativamente ao cálcio e ao fosfato de cálcio.

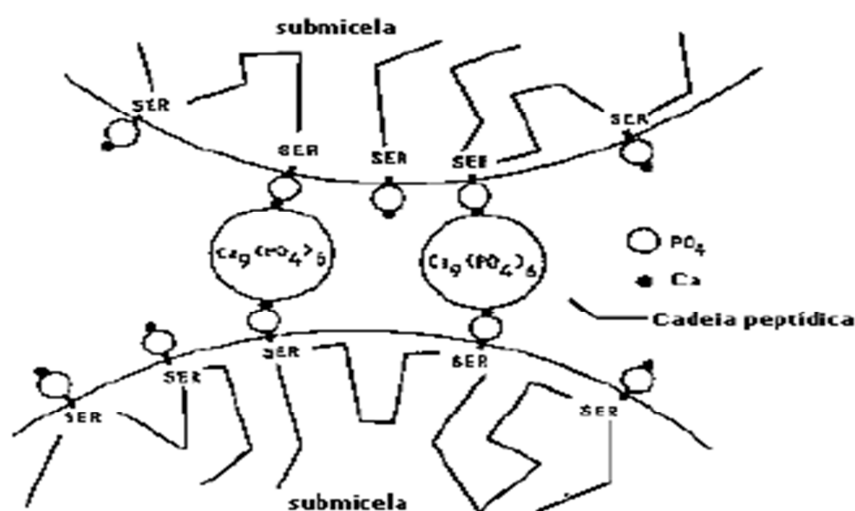


Figura 2 – Esquema de ligação entre duas submicelas por meio do fosfato de cálcio. (Fonte: Schmidt, 1982)



As submicelas apresentam diferentes proporções relativas de caseínas. Quando o teor de caseína κ na submicela é baixo, ou mesmo nulo, as subunidades localizam-se na zona interior da micela, enquanto as que apresentam elevado teor se encontram na periferia. O crescimento das micelas é limitado, devido ao facto da caseína κ apresentar baixo poder de fixação de cálcio. Por este motivo, o crescimento cessa quando a superfície da micela é composta fundamentalmente por caseína κ , sendo a sua componente polar projectada para o seio da parte aquosa, formando uma “cabeleira” espessa, com pelo menos 5 nm, à volta da micela.

As micelas de caseína têm um carácter ácido e, assim, conferem ao pH do leite um grande número de cargas negativas. As repulsões electrostáticas impedem que as micelas se aproximem e agreguem, mantendo a dispersão, (Green, 1973). A componente polar da caseína κ que forma a “cabeleira” já referida anteriormente é considerada um mecanismo adicional na estabilidade coloidal das micelas conferindo a repulsão estérica. Esta repulsão, função da densidade da “cabeleira”, pode ser muito importante devido à natureza hidrófila da componente COOH terminal da caseína κ (Mahaut *et al.*, 2000).

No entanto, o modelo mais recente proposto por Horne (1998) considera a micela uma estrutura proteica mineralizada com existência de ligações cruzadas, não sendo considerada a existência de submicelas.

No referido modelo os resíduos de fosfato de cálcio coloidal são os responsáveis por ligar as caseínas entre si e manter a rede proteica unida. O fosfato de cálcio coloidal é, não só, elemento de ligação, mas também um agente de neutralização, que sendo positivamente carregado, faz a ligação entre os resíduos de fosfoserina carregados negativamente. Esta neutralização permite reduzir a carga das proteínas para o nível em que as forças de interacção entre as regiões hidrofóbicas das caseínas podem dominar, sendo estas forças essenciais para manter a integridade micelar.

No modelo de Horne (1998), tal como nos modelos de Schmidt (1982) e de Walstra (1990), a caseína κ funciona como elemento de paragem no crescimento micelar.

Embora a caseína κ possa interagir através das regiões hidrofóbicas, o crescimento para além desta não é possível, uma vez que esta não possui resíduos de fosfoserina para fazer a ligação através do fosfato de cálcio coloidal. Assim, a caseína κ fará parte da região superficial da micela.

A estabilidade micelar provém, tal como nos modelos de Schmidt (1982) e de Walstra (1990), da presença de uma camada estabilizadora de caseína κ , cuja componente polar projectada para a parte aquosa, forma uma “cabeleira” espessa, cuja repulsão electrostática mantém as micelas dispersas no leite. (Fox e MacSweeney, 2004).



2.1.2. O leite de cabra

O leite de cabra, devido à ausência de caroteno, apresenta uma coloração branco-malte, possui maior proporção de ácidos gordos de cadeia curta, cáprico, caprílico e capróico que lhe conferem um sabor e cheiro particulares.

O pH deste tipo de leite varia entre 6,5 e 6,7. Em relação à acidez, o leite de cabra, obtido em boas condições de higiene e de animais saudáveis, apresenta, em média, valores de 13 a 15 mL de NaOH M/L, inferiores aos valores normais para o leite de vaca, na ordem dos 16 a 18 mL de NaOH M/L de leite.

A acidez do leite é resultado do somatório da acidez natural, relacionada com o teor de proteína (caseínas) e de sais minerais presentes no leite e a acidez desenvolvida por acção da flora microbiana. Assim, os valores mencionados anteriormente podem vir a sofrer um acréscimo considerável, nomeadamente se não se assegurarem um conjunto de medidas que previnam a contaminação e o desenvolvimento dos microrganismos (Le Jaouen, 1977).

No que diz respeito à fracção proteica, apesar de esta ser quantitativamente semelhante ao leite de vaca, o teor de caseína α_1 é, em geral, inferior no leite de cabra, podendo até ser muito baixo. São estas diferenças nos teores de caseína que vão originar, juntamente com a adição do coalho, diferenças significativas nas características físicas das coalhadas (Reigoto, 2009).

A composição mineral é similar no leite de cabra e de vaca, apresentando o leite de cabra teores mais elevados de potássio, cloro, magnésio, cálcio e fósforo.

O leite de cabra, usado no fabrico do queijo em estudo no presente trabalho, apresenta uma elevada digestibilidade relacionada com a sua composição proteica e lipídica, pois apresenta um teor baixo de caseína α_1 , o que favorece a formação de coágulos finos e suaves, facilitando o processo digestivo. Este leite apresenta ainda um teor em matéria gorda inferior ao leite de vaca, possuindo os seus glóbulos de gordura menores dimensões, cerca de 65% destes apresentam um diâmetro inferior a 3 μm , contra 43% no leite de vaca, o que apresenta um interesse nutricional evidente, na medida em que ao se encontrarem mais dispersos no leite e apresentarem uma maior superfície específica para a actuação enzimática, são facilmente digeridos e assimilados (Reigoto, 2009).

Aliada à elevada digestibilidade, encontra-se o excelente valor nutricional do leite de cabra, conferido pelas características particulares das suas fracções proteica e lipídica, com predominância de ácidos gordos de cadeia curta e ao elevado valor biológico das proteínas, quando comparado com o leite de outras espécies.



2.2. Mecanismos de Coagulação

2.2.1. Coagulação por acidificação

Os queijos frescos ácidos diferem de outros produtos lácteos fermentados essencialmente pela remoção de uma parte significativa do soro após coagulação.

Culturas constituídas por bactérias lácticas mesófilas, como por exemplo *Lactococcus* spp. e *Leuconostoc* spp e por vezes espécies probióticas são usadas neste tipo de queijo. (Fox e MacSweeney, 2004)

A coagulação ácida baseia-se na precipitação das caseínas devido à diminuição do pH do leite, aproximando-se do ponto isoeléctrico médio da caseína (pH 4,6).

As micelas de caseína, ao pH normal do leite, estão estabilizadas por cargas negativas conferindo repulsão electrostática. No seu ponto isoeléctrico verifica-se a neutralização das cargas negativas, levando à redução das repulsões electrostáticas (redução do potencial de superfície) e, consequentemente, à diminuição do poder de fixação do cálcio, e um deslocamento progressivo do cálcio e do fosfato inorgânico da micela para a fase aquosa. A referida desmineralização conduz à desagregação micelar, formando-se uma rede proteica insolúvel, que engloba, na sua malha, a totalidade da solução aquosa.

Ao longo do processo de coagulação ácida, podem ser identificadas três regiões de pH na acidificação do leite, de 6.7 até 4.6, o pH de interesse para a maioria dos tipos de queijos frescos ácidos:

➤ pH 6.7 até 6.0

A diminuição do pH conduz a uma diminuição da carga negativa das micelas e consequentemente uma diminuição das repulsões electrostáticas. Apenas uma pequena quantidade de fosfato de cálcio coloidal é dissolvida a um pH acima de 6.0, por isso a estrutura das micelas é pouco alterada.

À medida que o pH vai baixando há uma diminuição no tempo de gelificação, como consequência da diminuição das repulsões electrostáticas.

➤ pH 6.0 até 5.0

Continua a verificar-se diminuição das repulsões electrostáticas e verifica-se também uma diminuição da repulsão estérica conferida pela “cabeleira” formada pela componente polar da caseína κ , ou seja, há uma diminuição nos dois factores principais pela estabilidade micelar. (Zoon *et al.*, 1989).



➤ pH ≤ 5.0

As repulsões electrostáticas continuam a diminuir com a aproximação do ponto isoeléctrico da caseína, na aproximação do qual se verifica um aumento das interações electrostáticas (Horne, 1998)

No gel formado por coagulação ácida, as ligações intermoleculares que intervêm na sua formação são de natureza electrostática e hidrófoba o que permite explicar a elevada friabilidade do coágulo, pouco resistente a tratamentos físicos e/ou mecânicos.

São vários os factores que influenciam este tipo de coagulação, sendo de destacar a concentração do leite em proteínas, a temperatura, a velocidade de acidificação e o pH final da fermentação (Brule e Lenoir, 1987).

2.2.2. Coagulação enzimática

Este tipo de coagulação compreende fundamentalmente duas fases: a fase primária, enzimática, na qual ocorre a ataque do componente estabilizador da micela – a caseína κ , e a fase secundária, fase de coagulação, que corresponde à agregação das micelas.

Na fase primária ou enzimática, ocorre a proteólise da caseína κ , em particular na ligação Fen105 - Met106. Esta ligação, já referida anteriormente, separa os dois segmentos muito distintos que constituem a cadeia peptídica da caseína κ . Os referidos segmentos têm a designação de paracaseína κ (resíduos 1 a105) e caseinomacropéptido (CMP) ou glicomacropéptido (GMP), correspondente à fracção 106-169. A paracaseína κ é hidrófoba, básica e permanece integrada na micela, enquanto o caseinomacropéptido, que é hidrófilo e ácido, é libertado e passa para o soro. (Fox e MacSweeney ,2004).

A fase de coagulação, consiste na subsequente agregação das micelas que foram destabilizadas na proteólise enzimática.

Quando ocorre a proteólise primária, a estabilidade micelar deixa de existir, uma vez que o segmento que permanece integrado na micela (paracaseína κ) tem composição e estrutura diferentes da caseína κ original e, por conseguinte, não apresenta propriedades estabilizadoras. Com a libertação do caseinomacropéptido e sua passagem para o soro, ocorre uma diminuição da electronegatividade da micela e, conseqüentemente, uma diminuição das forças de repulsão electrostática e do grau de hidratação, que são responsáveis pela estabilidade micelar.

Posta em causa a estabilidade micelar, as micelas podem começar a estabelecer ligações intramicelares, começando então a coagulação. A pH 6,6, a agregação só se inicia quando 80 a 90% da caseína κ está hidrolisada. A Figura 3 ilustra as modificações acima referidas.

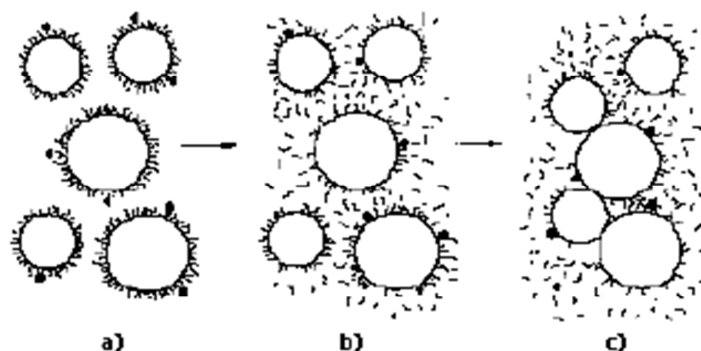


Figura 3 - Diagrama esquemático do ataque às micelas de caseína (Fonte: Dalglish, 1993).

Na Figura 3 ilustram-se três diferentes momentos da reacção das caseínas ao ataque enzimático: a) o invólucro das micelas está intacto e a quimosina (representada pelos pequenos círculos a preto) acabou de ser adicionada; b) algum tempo depois, grande parte das caseínas κ estão a ser hidrolisadas e uma parte do caseinomacropéptido está no soro, mas ainda resta o suficiente para evitar a agregação; c) mais tarde, aproximadamente quase todas as caseínas κ estão hidrolisadas e as micelas começam a agregar-se.

As duas fases acima referidas, são apresentadas de uma forma sequencial, o que não corresponde totalmente à verdade, uma vez que a segunda fase pode iniciar-se sem que a primeira esteja totalmente concluída. Significa, então, que o leite pode começar a coagular antes que a hidrólise da caseína κ esteja terminada. No entanto, é necessário que a primeira fase tenha início, pelo menos de modo parcial. Caso tal não se verifique, não haverá coagulação. (Brule e Lenoir, 1987; Dalglish, 1993; Mahaut *et al.*, 2000).

Tecnologicamente, considera-se como tempo de coagulação o tempo que decorre desde a adição do agente coagulante e o final da fase de agregação das micelas, a fase de endurecimento ou de aumento de rigidez do gel. Na realidade, sob o ponto de vista do estudo das diferentes fases da coagulação enzimática, tempo de coagulação ou de floculação corresponde ao início do aparecimento dos primeiros flocos no leite depois da adição do coagulante, e representa o começo da agregação das micelas de caseína destabilizadas pela acção enzimática (Lenoir *et al.*, 1997), isto é, ao reflexo visível da fase enzimática.



➤ Temperatura

A temperatura é, um dos factores mais importantes neste tipo de coagulação, exercendo uma influência completamente distinta nas duas fases. A influência deste factor é mais marcante sobre a fase secundária, nomeadamente na velocidade de agregação, que na fase enzimática. Segundo Martins (1999), é por este motivo que se consegue explicar que, mesmo a baixa temperatura, ocorre a fase primária, não ocorrendo, a coagulação do leite.

➤ pH

O pH é um dos factores mais importantes na coagulação enzimática do leite, sentindo-se a sua influência principalmente no tempo de coagulação e na consistência do gel (Delacroix-Buchet *et al.*, 1994). A fase secundária da coagulação é mais sensível ao pH que a fase primária, sendo favorecida por um pH mais baixo que o do leite.

Com a diminuição do pH, há uma tendência para a diminuição do tempo de coagulação (Quadro II), pela aproximação ao pH óptimo para a actividade proteolítica do coalho ou das proteases de *Cynara cardunculus* L.. Acima de pH 7, não ocorre coagulação devido ao facto de se verificar a inactivação das enzimas do coalho (Dalglish, 1993; Lenoir *et al.*, 1997).

Também com a diminuição do pH ocorre a diminuição da estabilidade das micelas de caseína, ligada à neutralização das cargas negativas e à libertação de iões de cálcio, tornando-se mais fácil a agregação micelar. Por este motivo, o gel é mais consistente a pH inferior ao do leite (Ramet e Weber, 1980; Dalglish, 1993; Lenoir *et al.*, 1997).

Quadro II – Evolução do tempo de coagulação no intervalo de pH 6,7 – 6,0

| pH | 6,0 | 6,3 | 6,5 | 6,7 |
|---------------------------|-----|-----|-----|-----|
| Tempo de coagulação (min) | 1,0 | 1,5 | 2,2 | 4,2 |

No entanto, se a descida de pH for muito acentuada, chegando a valores abaixo de 6,0, verifica-se uma desmineralização acentuada das micelas de caseína, desidratação e desagregação das mesmas, conduzindo à obtenção de um gel menos firme e consequentemente a uma coalhada mais difícil de trabalhar. (Figura 4).

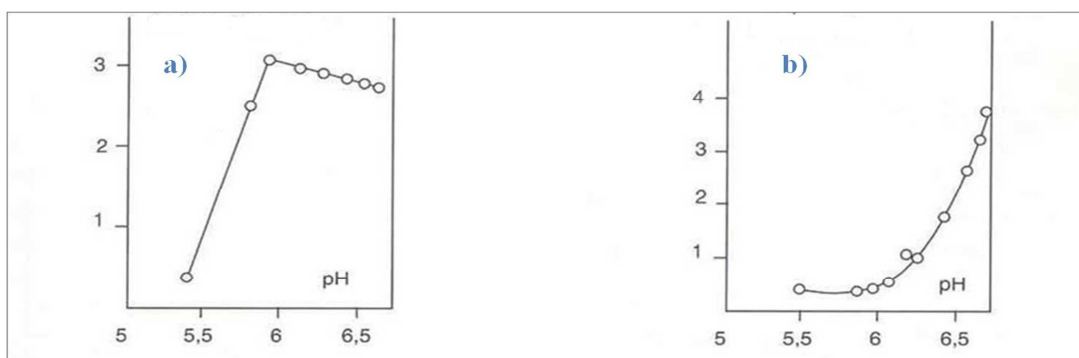


Figura 4 - Influência do pH sobre a firmeza máxima da coalhada e a velocidade de agregação micelar (Fonte: Brule, G.; Lenoir, J., 1987).

a) Firmeza máxima; b) velocidade de agregação micelar máxima

➤ Tipo de leite

O tipo de leite utilizado no fabrico de queijo é também um dos factores com maior influência no produto final obtido. A concentração e dimensão das micelas de caseína e o teor de cálcio coloidal e solúvel são características que variam entre espécies e, dentro da mesma espécie, variam com a raça. Estas variações são responsáveis pelo comportamento do leite durante a coagulação e pelas características do gel.

Pela Figura 5, é possível observar que, mantendo as mesmas condições de ensaio, o comportamento do leite das três espécies mencionadas anteriormente é completamente diferente, nomeadamente no que se refere ao início da coagulação, à evolução da firmeza do gel, o que tem fortes implicações quer a nível tecnológico quer a nível do produto em fresco ou final (Martins, 2001).

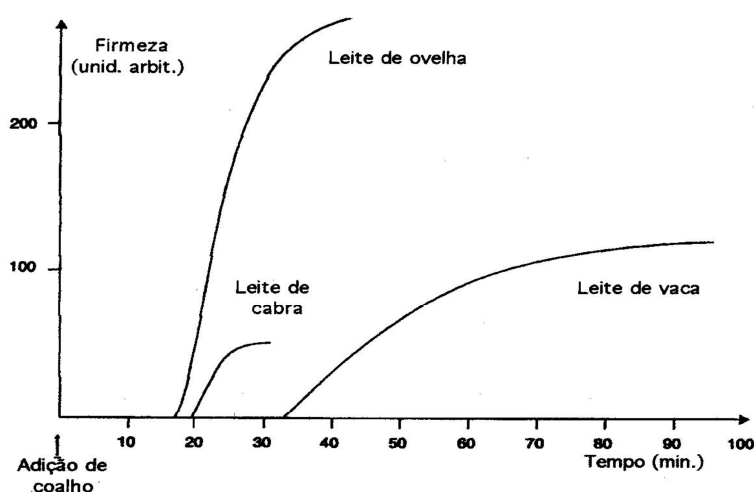


Figura 5 - Curvas de evolução da firmeza do gel obtido a partir dos leites de vaca, cabra e ovelha (Fonte: Lenoir *et al*, 1997).



Os leites de cabra e de ovelha apresentam reacções distintas das do leite de vaca em resultado da aplicação de coalho.

O leite de ovelha, rico em caseína e em cálcio micelar (Delacroix-Buchet *et al.*, 1994), apresenta um início de floculação muito próximo ao do leite de cabra, mas possui uma velocidade de agregação micelar muito elevada e uma consistência máxima do gel cerca de duas vezes superior à que o leite de vaca atinge (Bencini e Johnston, 1997). No caso do leite de cabra, cujo teor em caseína é mais baixo, com proporções das diferentes caseínas distintas das do leite de vaca e cujo teor em cálcio iónico é elevado (Remeuf *et al.*, 1989; Kalantzopoulos, 1993), verifica-se que coagula num curto espaço de tempo e a consistência do gel evolui a uma velocidade elevada, mas a firmeza máxima do gel atingida é reduzida.

➤ Adição de cálcio

Após a acção do coalho, as micelas de caseína tornam-se sensíveis aos iões cálcio e pequenas variações no seu teor poderão provocar alterações significativas no tempo de coagulação e na firmeza final do gel. (Lenoir *et al.*, 1997). Com esta adição pretende-se reduzir o tempo de floculação e aumentar a rigidez do gel (Martins, 1999).

Embora não tendo intervenção na fase primária da coagulação enzimática, ao adicionar cálcio ao leite, verifica-se uma diminuição do pH decorrente da troca de iões Ca^{2+} por H^+ e, consequentemente, uma possível diminuição do tempo de coagulação. Contrariamente, a fase secundária da coagulação é muito dependente dos iões cálcio ou do fosfato de cálcio coloidal, que são essenciais para uma boa agregação das micelas de caseína destabilizadas na primeira fase da coagulação. (Furtado, 1990; Lenoir *et al.*, 1997).

Ao adicionar cloreto de cálcio ao leite, verifica-se um aumento do teor em cálcio e de fosfato de cálcio coloidal, abaixamento do pH com consequente diminuição da estabilidade das micelas, favorecendo a actuação das enzimas do agente coagulante.

Por outro lado, ocorre uma diminuição do tempo de coagulação, um aumento da firmeza do gel formado e da velocidade de agregação micelar. (Brule e Lenoir, 1987).

É necessário realçar que, a aceleração da fase de agregação só se verifica para quantidades limitadas de adição de cloreto de cálcio, sendo o efeito também limitado (Lucey e Fox, 1993).



2.2.3. Coagulação mista

A coagulação mista é realizada por acção conjunta de enzimas coagulantes e do ácido láctico produzido por culturas (fermentos) lácticas. Contudo, a formação do coágulo faz-se geralmente com a acção dominante das enzimas, o qual adquire gradualmente características de uma pasta láctica à medida que a fermentação láctica progride.

O produto final obtido, apresenta características diferentes consoante o momento e a intensidade em que ocorrem a acidificação e o dessoramento no processo de fabrico.

As coalhadas obtidas segundo este modo de coagulação, apresentam características intermédias entre a coagulação puramente enzimática e a coagulação obtida apenas por acidificação do leite, numa situação entre os dois modelos extremos que se apresentam na Figura 6.

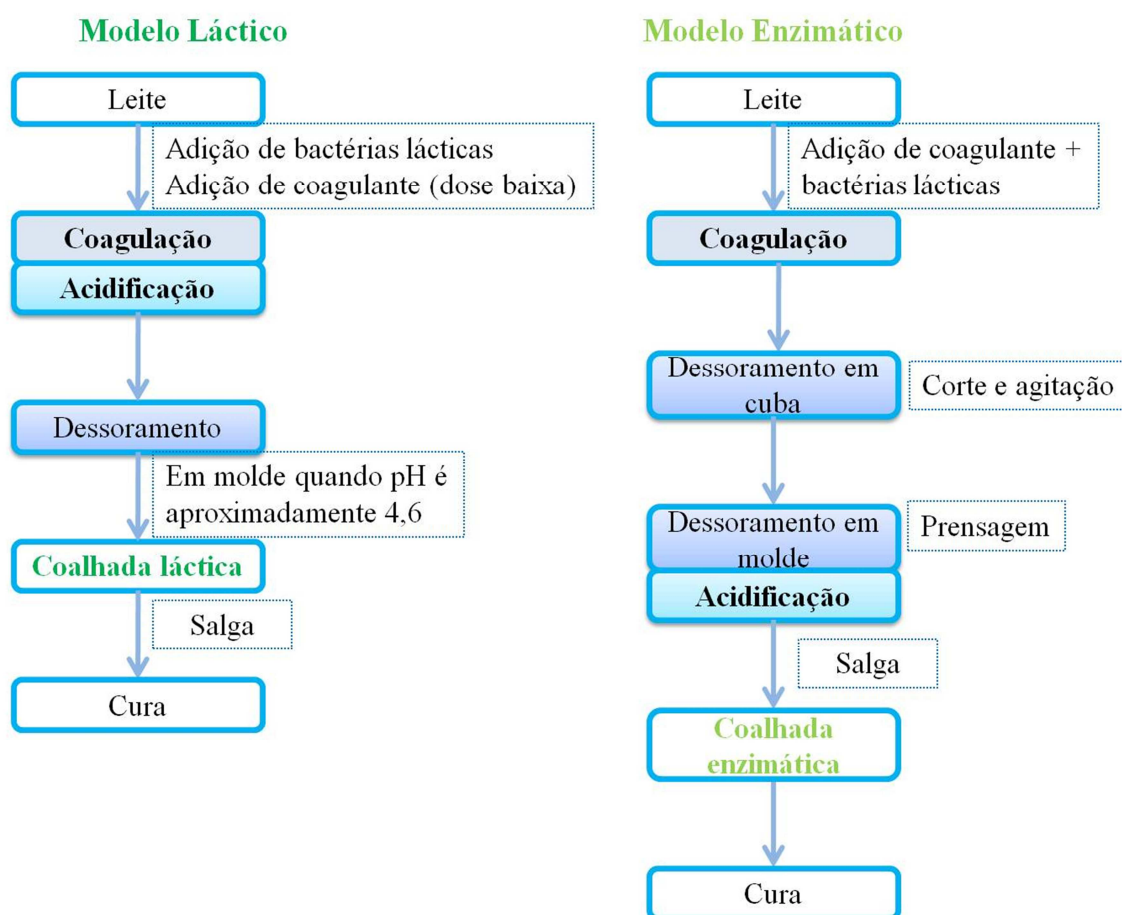


Figura 6 - Modelos de obtenção de coalhadas predominantemente lácticas e predominantemente enzimáticas (adaptado de: Gaucheron *et al*, 2004).

Neste tipo de coagulação, a intensidade da acidificação produzida pelas bactérias lácticas depende ainda do tipo de produto pretendido.

Os géis formados por via enzimática e/ou por acidificação estão num estado físico instável. Com maior ou menor rapidez, consoante a natureza do gel, as acções mecânicas aplicadas (corte,



agitação), temperatura utilizada e a acidificação, o gel contrai (sinérese) e endurece. O dessoramento é, portanto, um processo complexo que resulta de fenómenos físicos activos (acções mecânicas sobre o gel) e também fenómenos passivos relacionados com a própria porosidade e permeabilidade do gel.

A acidificação favorece o dessoramento, uma vez que o abaixamento do pH, diminui água de hidratação das micelas e conduz a uma solubilização parcial do fosfato de cálcio ligado à caseína, favorecendo o estabelecimento de ligações secundárias necessárias à contracção do coágulo (Brule e Lenoir, 1987), de modo que o dessoramento das coalhadas ácidas pode ser conseguido com eficácia sem grande intervenção física externa, muitas vezes apenas viragens periódicas dos moldes após o enchimento (Figura 6).

Estas intervenções físicas externas dependem do tipo de queijo que se pretende obter, utilizando-se tratamentos mecânicos como o corte, a agitação e a prensagem para facilitarem a saída do soro, sobretudo quando se trata de coalhadas enzimáticas, em que o dessoramento espontâneo se torna mais difícil. A aptidão das coalhadas para sofrerem estes tratamentos, está relacionada com as características físico-químicas adquiridas pelo coágulo durante a sua formação. De uma forma geral, o momento em que ocorre a acidificação (desmineralização) em relação à saída do soro determina, no final, as características básicas do queijo no momento do desmolde.

O corte consiste na divisão do gel em porções mais pequenas, aumentando a superfície de saída do soro. Nos queijos de predominância láctica, esta é essencialmente a única acção mecânica sobre a coalhada, devido à sua elevada friabilidade. Em alguns casos, o corte pode mesmo reduzir-se às operações de transferência e repartição da coalhada para os moldes.

A agitação, consiste na agitação, no soro, dos grãos da coalhada obtidos depois do corte. Esta operação é necessária, uma vez que, devido à propensão da coalhada cortada para voltar a agregar-se, os grãos aglomerar-se-iam em massa, da qual a eliminação do soro se faria muito lenta ou incompletamente. (Weber, 1987). Nas coalhadas de características essencialmente enzimáticas, esta operação é fundamental para a libertação do soro, uma vez que a porosidade e a permeabilidade diminuem com a sinérese devido ao “apertar da malha” de gel (contracção do gel).

No caso de coalhadas com características essencialmente lácticas, a estrutura formada é contínua e muito desmineralizada (poucos minerais permanecem ligados às caseínas). A permeabilidade permanece elevada, mas a porosidade diminui durante o esgotamento, assim o esgotamento deste tipo de gel é lento e progressivo no tempo.



III. Trabalho Experimental

1. Introdução

Para além do queijo de Azeitão, a queijaria onde foram efectuados os ensaios de fabrico de queijo, produz também queijo de cabra curado, sendo esta produção recente e em pequena escala, quando comparada com a sua actividade principal, a produção de queijo de Azeitão.

A empresa procura assentar o fabrico dos seus diferentes produtos no trabalho em cuba de fabrico, tentando preparar a coalhada de modo a que possa ser encinchada/enformada directamente em sistemas de formas multimoldes, após o que se processa a prensagem do queijo. Para isso, possui duas cubas de parede dupla, de modo a manter constante a temperatura de coagulação e de dessoramento, com liras horizontais e verticais colocadas em suporte próprio acoplado à cuba de coagulação e accionadas por motor regulável no que se refere à velocidade de rotação e de translação, de modo a que todo o trabalho necessário possa ser efectuado na cuba.

Após o processo de coagulação o enchimento é realizado numa enchedoura automática, comum às duas linhas. Este equipamento permite a utilização de moldes de diferentes tamanhos. Após o enchimento, os moldes seguem para uma prensa pneumática. A empresa pode, assim, funcionar como se de duas linhas de fabrico independentes se tratasse, alternado a alimentação do sistema de enchimento entre as duas cubas. Os ensaios experimentais, como se refere mais à frente com maior pormenor, foram efectuados numa cuba de menor capacidade.

Considerando os objectivos definidos, o trabalho foi desenvolvido em três fases. A primeira fase incidiu na avaliação prévia dos elementos essenciais a utilizar nos ensaios, isto é, caracterização da aptidão tecnológica do leite para a coagulação, compreendendo o seu comportamento ao longo da coagulação, e em função dos factores tecnológicos a considerar no delineamento experimental, agente coagulante e fermento láctico, de modo a fixar as respectivas gamas de variação.

Numa segunda fase procedeu-se aos ensaios de fabrico, realizados na queijaria Flor de Cardo segundo o delineamento estabelecido, e às respectivas análises físico-químicas, sensorial e de textura para caracterização do produto.

Por fim, a terceira fase consistiu no tratamento estatístico dos resultados obtidos nos 11 ensaios, desenvolvidos segundo uma matriz central compósita rotativa, complementado por uma análise em componentes principais em que cada lote de queijo obtido nestes ensaios foi caracterizado por parâmetros físico-químicos, reológicos e sensoriais.



2. Material e Métodos

Durante nove semanas, procedeu-se à realização de fabricos de queijo, utilizando 25L de leite de cabra. Os queijos produzidos foram submetidos a análises físico-químicas, sensorial e de textura, no dia seguinte ao seu fabrico e três a quatro dias depois, após conservação sob refrigeração em frigorífico, simulando dois momentos diferentes de consumo. Foi também recolhida uma amostra do leite usado em cada fabrico para análise físico-química.

2.1. Método das Superfícies de Resposta e Delineamento

Experimental

Os ensaios de fabrico realizados foram conduzidos de acordo com o delineamento obtido utilizando o método das superfícies de resposta. Este método, *Response Surface Methodology* (RSM), é um método estatístico experimental que permite testar mais do que uma variável em simultâneo, identificar as interacções entre elas, descrever a forma como as variáveis afectam a resposta e o efeito combinado que promovem. Outra vantagem deste método é a redução do número de experiências, o que se torna vantajoso do ponto de vista de economia de recursos e de tempo (Giovanni, 1983). Na experimentação clássica, o efeito de cada variável é obtido alterando o valor de uma variável isoladamente e mantendo os restantes factores constantes, não permitindo detectar interacções entre os factores e levando à necessidade de um grande número de ensaios experimentais.

Este método, segundo Giovanni (1983), pode ser dividido em quatro passos:

- Escolha dos factores críticos (variáveis) mais importantes para o produto a estudar;
- Definição dos níveis de variação desses factores;
- Determinação dos ensaios a realizar através do delineamento experimental;
- Análise e interpretação dos resultados obtidos.

A designação, método das superfícies de resposta, está directamente ligada com o facto da relação existente entre a resposta do sistema (y) e as variáveis de decisão (x_i) ser expressa por uma superfície de resposta com $(p+1)$ dimensões, correspondendo p ao número de variáveis de decisão. A superfície é representada por uma equação polinomial.

Nesta metodologia, podem ser usados quatro tipos de matrizes de delineamento experimental: Factorial completa, Factorial fraccionada, Matriz central compósita (“Central Composite Design”, CCD) e Matriz central compósita rotativa (“Central Composite Rotatable Design”, CCRD). Esta última foi a usada para este trabalho (Quadro III) e permite ajustar polinómios de segunda ordem à resposta.



Quadro III - Matriz Central Compósita Rotativa (“Central Composite Rotatable Design”) codificada para dois factores X_1 e X_2 (Adaptado de: Sengo, 2008).

| Ensaio | X_1 | X_2 | |
|--------|-----------|-----------|--|
| 1 | -1 | -1 | Matriz Factorial 2^k |
| 2 | 1 | -1 | |
| 3 | -1 | 1 | |
| 4 | 1 | 1 | |
| 5 | $-\alpha$ | 0 | Pontos Estrela $\alpha=\sqrt{2}$ |
| 6 | α | 0 | |
| 7 | 0 | $-\alpha$ | |
| 8 | 0 | α | |
| 9 | 0 | 0 | Repetições do Ponto Central |
| 10 | 0 | 0 | |
| 11 | 0 | 0 | |

A matriz CCR é constituída por três tipos de pontos experimentais (Vuataz, 1986; Montgomery, 1991):

- O primeiro conjunto de pontos corresponde a uma matriz factorial 2^k pontos (k é o número de variáveis), os quais correspondem aos pontos extremos que são os pontos que vão definir a região de interesse. Os referidos pontos são os vértices de um poliedro cujo centro é a origem (0,0), tal como se pode observar na Figura 7, para o caso de duas variáveis (factores).
- O segundo conjunto de pontos são 2^k pontos estrela, os quais se situam nos eixos do sistema de referência a uma distância de $2^{k/4}$. Estes pontos apresentam-se codificados na matriz como $(-\alpha)$ e $(+\alpha)$. No caso de duas variáveis, $\alpha=\sqrt{2}$. (Figura 7).
- O último conjunto de pontos corresponde a uma repetição do ponto central (0,0), de forma a estimar a variância do erro experimental, o qual se admite constante ao longo de todo o domínio experimental.

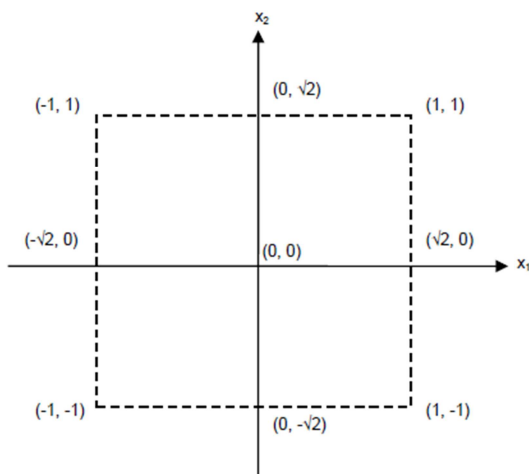


Figura 7 - “Central Composite Rotatable Design” para dois factores X_1 e X_2

As equações polinomiais que se obtêm através deste método, traduzem a resposta, Y , em função das variáveis de decisão, x_i , dando origem a uma Superfície de Resposta com $(k+1)$ dimensão, sendo k o número de variáveis x_i .

O estimador de Superfície de Resposta para duas variáveis é:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_{12} + b_{22}x_{22} + b_{12}x_1x_2$$

Y – Variável dependente

x_1x_2 – Variáveis independentes

b_1, b_2 – Coeficientes lineares

b_{11}, b_{22} – Coeficientes quadráticos

b_{12} – Coeficiente linear da interacção x_1x_2

O ajuste do modelo aos resultados experimentais pode ser traduzido pelo coeficiente de determinação R^2 , sendo R o coeficiente de correlação entre as variáveis independentes. O valor de R^2 varia entre 0 e 1, e quanto mais próximo estiver de 1, mais o modelo se ajusta aos dados experimentais. O R^2 indica a percentagem de informação explicada pelo modelo polinomial ajustado aos pontos experimentais.

A partir de R^2 pode-se calcular o coeficiente de determinação ajustado, R^2_{ajustado} , a partir da seguinte equação (Wiesberg, 1985):

$$R^2_{\text{ajustado}} = 1 - [(n-1)/(n-k)] \times (1-R^2)$$

n = número de observações

k = número de coeficientes da equação de regressão



O R^2_{ajustado} deve ser sempre apresentado em conjunto com o R^2 quando se estuda a aplicabilidade do modelo. O R^2_{ajustado} também varia entre 0 e 1 e é sempre inferior a R^2 , mas quanto mais próximo estiver da unidade, mais o modelo se ajusta à realidade.

2.1.1. Ensaios de Fabrico de Queijo

Os ensaios experimentais de fabrico de queijo foram realizados de acordo com a matriz central compósita rotativa (Quadro IV), em função da quantidade de coagulante e de fermento testado. Com estes ensaios pretendeu-se avaliar a presença de uma eventual interação entre estes dois parâmetros e a sua influência nas características finais do produto, de modo a obter uma formulação adequada (quantidade de coagulante e de fermento) às características que se procuravam para o produto.

Quadro IV - Matriz Compósita Rotativa, decodificada

| Ensaio | Coagulante (ml/100L) | Fermentos (Un) | |
|--------|-------------------------|-------------------|--|
| 1 | 2,3 | 0,2 | Matriz Factorial 2^K |
| 2 | 2,3 | 0,9 | |
| 3 | 8,7 | 0,2 | |
| 4 | 8,7 | 0,9 | |
| 5 | 1 | 0,5 | Pontos Estrela $\alpha=\sqrt{2}$ |
| 6 | 10,0 | 0,5 | |
| 7 | 5,5 | 0,0 | |
| 8 | 5,5 | 1,0 | |
| 9 | 5,5 | 0,5 | Repetições do Ponto Central |
| 10 | 5,5 | 0,5 | |
| 11 | 5,5 | 0,5 | |

Em função dos ensaios prévios efectuados, quer de coagulação, quer de acidificação, definiram-se as condições limite de utilização de cada um dos factores tecnológicos a estudar. Como se pode observar, a dose de coagulante utilizada variou entre 1 mL e 10 mL de uma diluição de coagulante (1%, m/v) para 100 L de leite, e a dose de fermento láctico utilizado variou entre 0 e 1 unidade (DSM) de fermento láctico para 100 L de leite.



2.2. Processo de Fabrico

Nos dias de produção do queijo de cabra, aquando da chegada do leite, foi colhida uma amostra para realização de análises físico-químicas no Núcleo de Tecnologia do Leite e Derivados (NTLD) da Unidade de Investigação de Tecnologia Alimentar do L-INIA/INRB, I.P.

Posteriormente, procedeu-se ao aquecimento do leite, num permutador de placas, até 60 – 65°C, passando a esta temperatura para uma cuba de fabrico, de parede dupla, seguindo-se um período de arrefecimento, na própria cuba, até à temperatura de fabrico (cerca dos 32°C).

Atingida a temperatura de fabrico, procedeu-se à adição do fermento láctico, do cloreto de cálcio e, finalmente, do coagulante, na forma líquida

O coagulante utilizado nestes ensaios foi o MAXIREN[®] 1800 *granulate* (DSM), uma preparação granular de quimosina derivada de uma estirpe especial da levedura *Kluyveromyces lactis*. Previamente ao fabrico, foi preparada uma solução aquosa a 1% (m/v) deste coagulante e adicionada a quantidade específica para cada ensaio.

O fermento adicionado foi o DELVO-TEC[®] DX-33B DSL (DSM), uma cultura liofilizada altamente concentrada de bactérias produtoras de ácido láctico, nomeadamente *Lactococcus lactis ssp lactis*, *Lactococcus lactis ssp cremoris*, *Lactococcus lactis ssp lactis biovar diacetylactis* e *Leuconostoc sp*. Este produto apresenta-se em saquetas, de 2 unidades, sob forma granular não-aglutinante, tendo sido realizada, previamente à realização do ensaio, a dissolução do conteúdo das saquetas em solução de Ringer, (2 unidades/500 mL), adicionando-se a quantidade de suspensão definida para cada ensaio.

A quantidade de cloreto de cálcio foi mantida constante ao longo dos ensaios, sendo adicionadas 1,5g por cada 25L de leite laborados (0,06 %).

Após as adições acima referidas, procedeu-se a medições de pH em intervalos de 30 minutos, permitindo monitorizar a produção de ácido láctico, pelas culturas acima descritas.

Registou-se o tempo decorrido até ao início da floculação, um controlo introduzido nestes ensaios, permitindo distinguir a fase enzimática (desde a adição dos coagulantes até ao início da floculação) da fase de agregação micelar. Iniciando-se a fase de agregação micelar, observou-se o aumento da consistência da coalhada. Após a identificação do início da floculação, nos ensaios predominantemente enzimáticos, foi utilizado como tempo de endurecimento o dobro do tempo decorrido até esse momento, efectuando-se, após esse período, o corte da coalhada.

O corte da coalhada realizou-se de forma manual, sendo o primeiro corte realizado com lira horizontal. Após o primeiro corte, a coalhada permaneceu em repouso durante 10 minutos, ao fim dos quais se efectuou o segundo corte, com lira vertical, em dois sentidos. Após o segundo corte, a



coalhada permaneceu cerca de 20 minutos em repouso, permitindo a formação de uma camada de soro livre à superfície (Figura 8).



Figura 8- Formação de camada de soro livre à superfície da coalhada.

Procedeu-se, no final deste período, ao enchimento manual de multimoldes perfurados, com concha, processo característico do encinchamento de coalhadas com forte contribuição da acidificação.



Figura 9 - Queijos após prensagem por gravidade



Terminado o enchimento, a prensagem foi efectuada por gravidade (Figura 9), sendo os multimoldes virados de meia em meia hora, três vezes. Neste período em que foram efectuadas as viragens, realizou-se também a salga manual dos queijos (dosagem) em ambas as faces, uma vez que os ensaios prévios realizados mostraram que a salga no leite, praticada na empresa para o fabrico de queijo utilizando cardo como agente coagulante, não era possível de realizar, dada a sensibilidade do coagulante utilizado a concentrações de cloreto de sódio mesmo ligeiras.

Os queijos seguiam, em seguida, dentro dos multimoldes, para armazenamento refrigerado.



Figura 10 - Diagrama de Fabrico dos Ensaios Realizados

O processo de fabrico acima descrito, está apresentado na figura 10.

2.3. Análises de Leite

O leite utilizado no fabrico foi recolhido na empresa, após pasteurização, sendo a amostra mantida a temperatura de refrigeração até ao momento da análise (dia seguinte ao fabrico), no Núcleo de Tecnologia do Leite e Derivados da Unidade de Investigação de Tecnologia Alimentar do L-INIA/INRB, I.P.

Antes da análise, a amostra foi colocada a cerca de 35°C, homogeneizada e posteriormente colocadas a uma temperatura de 20°C.

Foram então realizadas as seguintes análises físico-químicas de caracterização para cada amostra de leite:



- pH (20°C) – por potenciometria, com recurso a um potenciómetro 713 pH Meter Metrohm, Herisau, Swiss;
- Acidez – de acordo com a Norma Portuguesa NP 470 (DGQ, 1983), “*Leites. Determinação da acidez.*”;
- Matéria Gorda – de acordo com a Norma Portuguesa NP 469 (DGQ, 1983), “*Leites. Determinação da matéria gorda (Técnica de Gerber). Processo corrente.*”;
- Resíduo Seco – de acordo com a Norma Portuguesa NP 475 (DGQ, 1983), “*Leites. Determinação do resíduo seco e resíduo seco isento de matéria gorda.*”;
- Densidade (20°C) – de acordo com a Norma Portuguesa NP 474 (DGQ, 1983), “*Leites. Determinação da densidade relativa. Processo corrente.*”;
- Azoto total e proteína bruta – de acordo com a NP 1986 (DGQ, 1991) “*Leites. Determinação do teor de proteína bruta. Técnica de Kjeldahl*”, modificado como referido em Martins (1989);

As análises efectuadas ao leite, foram realizadas em duplicado.

2.4. Análises ao Queijo

2.4.1. Análises Físico-Químicas ao Queijo

No dia seguinte ao fabrico, e três a quatro dias depois, os queijos, que permaneciam, em câmara de frio na indústria, sendo retirados apenas no dia da análise, foram sujeitos à seguinte caracterização:

- pH (20°C) – por potenciometria, utilizando um potenciómetro 713 pH Meter Metrohm, Herisau, Swiss, munido de um eléctrodo de penetração.
- Acidez – por titulação com solução alcalina de um extracto aquoso de queijo (AOAC, 1975)
- Matéria Gorda – de acordo com a Norma Portuguesa, NP – 2105 (1983) - “*Determinação do teor de matéria gorda. Técnica de Van Gulick. Processo corrente.*”.
- Resíduo Seco – segundo a NP - 3544 (1987) - “*Queijos e Queijos Fundidos. Determinação do resíduo seco e do resíduo seco isento de matéria gorda.*”.
- Azoto total e proteína bruta – pelo método de Kjeldahl, adaptado segundo procedimento em rotina no laboratório.
- Cloretos - pela metodologia de Charpentier-Volhard, segundo AOAC (1975).

As análises efectuadas ao queijo foram realizadas em duplicado.



2.4.2. Caracterização Reológica

i. Caracterização Reológica de Produtos Alimentares

Os alimentos, para além do aroma, cor e sabor característicos, possuem um determinado comportamento mecânico, ou seja, reagem de determinada forma quando são submetidos a uma deformação. Podem ser duros ou macios, elásticos ou inconsistentes, gomosos ou quebradiços, de textura uniforme ou fibrosa, etc. (Muller, 1973).

A ciência que se dedica ao estudo e deformação dos materiais é a Reologia. Esta ciência preocupa-se em caracterizar e definir as relações entre a tensão, que actua sobre o material (força aplicada por unidade de área) e a deformação que esta provoca, ou seja, o modo como o material reage à acção de força exterior, alterando as suas dimensões ou mudando de forma. Assim podem ser descritos três tipos principais de comportamento dos materiais (Sousa 1995):

- ❖ O sólido elástico ideal ou de Hooke, que se caracteriza por: (1) apresentar a tensão proporcional à deformação, (2) a deformação recupera instantaneamente, (3) em resposta a uma tensão instantânea gera-se uma deformação instantânea, (4) não existe dependência do tempo, isto é, a deformação mantém-se constante como resposta a uma tensão constante.

O comportamento elástico ideal traduz-se pela Lei de Hooke: $\tau / \gamma = \text{Constante}$, em que τ representa a tensão e γ a deformação.

- ❖ O líquido viscoso ideal ou Newtoniano, cujo comportamento se identifica com as propriedades vulgarmente atribuídas aos líquidos, possuindo segundo Launay (1974), as seguintes características: (1) em resposta a uma tensão instantânea gera-se uma deformação a velocidade constante, (2) a tensão é proporcional à velocidade de deformação, (3) quando a tensão é removida a deformação não recupera, (3) quando a tensão é removida a deformação não recupera, mantendo-se constante.
- ❖ O Líquido e sólido viscoelástico, comportamento típico da maioria dos produtos alimentares sendo também o caso do queijo. (Sherrman, 1988). Este comportamento é característico dos materiais com um comportamento intermédio entre o de um sólido e de um fluido, ou seja, tem uma componente viscosa e uma componente elástica.

Para efectuar a caracterização de um alimentos do ponto de vista reológico, ou seja, estudar o seu comportamento na deformação ou no escoamento, podem ser efectuados três tipos de testes:

- ❖ Testes Fundamentais: têm como objectivo a compreensão profunda do comportamento do material, sendo utilizados aparelhos sofisticados e dispendiosos. São expressos em unidades físicas bem definidas, ou seja, em unidades fundamentais o que permite que os seus resultados tenham significado independentemente das condições experimentais e do aparelho utilizado.



- ❖ Testes empíricos: são testes de fácil execução, no entanto, são expressos em unidades empíricas, pelo que os seus resultados só têm significado quando inseridos num contexto específico.
- ❖ Testes imitativos: nestes testes tenta reproduzir-se, a uma escala reduzida, as condições a que o material é sujeito durante o processamento e avaliar, sob estas condições, qual o seu comportamento reológico. Os resultados são também expressos em unidades empíricas.

ii. Textura e sua Determinação Instrumental

A textura é um atributo fundamental nos alimentos. É uma propriedade física cuja percepção envolve os sentidos e é muitas vezes a característica determinante na aceitabilidade dos produtos pelo consumidor.

Segundo Stapanoni e Noble (1991), a textura dos alimentos é fundamentalmente uma propriedade sensorial que pode ser quantificada se a reduzirmos à sua componente mecânica, isto é, se usarmos métodos físicos simples para medir a resistência que o alimento opõe à deformação provocada por acção de uma força.

A textura é uma propriedade crítica da qualidade do queijo, fundamental na sua aceitabilidade pelos consumidores. Estudos efectuados em diferentes tipos de queijo levaram a concluir que a dureza é o parâmetro mais importante da textura no que respeita às preferências dos consumidores e às avaliações sensoriais (Perry e Carroad, 1980). As propriedades reológicas do queijo podem ser tão importantes como o seu sabor (Farkye *et al*, 1990).

A textura pode ser avaliada por métodos instrumentais, usando-se normalmente testes reológicos, ou pode ser avaliada por métodos sensoriais, recorrendo-se a painéis de provadores.

A determinação instrumental da textura baseia-se na resposta do material ao contacto de uma sonda que o deforma. O grau de deformação e/ou resistência oferecida é registada sendo usada como índice de textura do alimento.

O texturómetro determina parâmetros relacionados com a textura dos materiais, tendo sido determinadas boas correlações entre os parâmetros determinados instrumentalmente e sensorialmente.

Os testes efectuados com este aparelho são testes imitativos e, por isso, muito dependentes das condições experimentais. Dependem, da geometria da amostra (tamanho e forma), do tipo de sonda e de condições do ensaio, como a velocidade e a deformação, e são ensaios altamente dependentes da temperatura e da velocidade de desidratação da amostra.

O teste de perfil de textura é um teste imitativo que envolve a penetração da amostra por duas vezes, com uma pausa entre elas, pretendendo simular o efeito de duas dentadas no alimento.



Considera-se serem as duas primeiras dentadas as mais representativas da textura do alimento, pois nas dentadas subsequentes o alimento fica demasiado embebido em saliva para que possa ser devidamente avaliado texturalmente e distinguido de outros alimentos de textura diferente (Szczesniak, 1966)

A interpretação da Figura 11 fornece indicações, para além da dureza, de outros parâmetros da textura dos alimentos, como a coesividade e a adesividade. Segundo Sousa (1995), estes três parâmetros estão bem correlacionados com a avaliação sensorial.

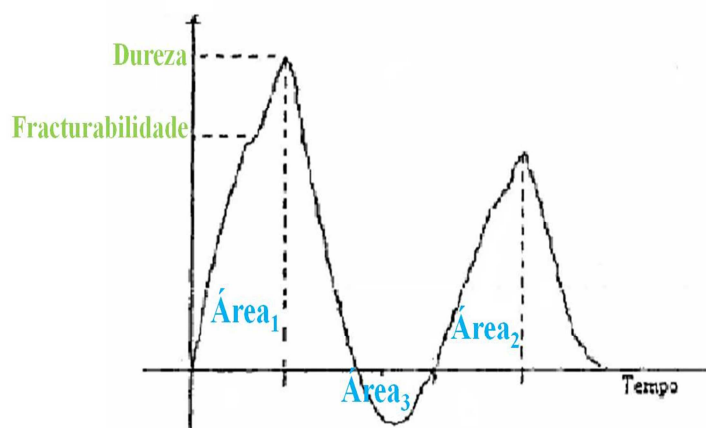


Figura 11 - Representação Esquemática do Texturograma

A dureza, tal como se pode observar na Figura 11, é medida pela força máxima registada no primeiro ciclo de penetração ou compressão. Na maior parte dos casos, a dureza está relacionada com a força de ruptura do material.

A fracturabilidade é a força necessária à fractura do material, no entanto este parâmetro nem sempre existe.

A coesividade, resulta da força das ligações internas que definem a estrutura do produto. É expressa pela razão entre a área 2 (A_2) e a área 1 (A_1), representadas na Figura 11.

A adesividade é o trabalho necessário para ultrapassar as forças de atracção entre o material e a superfície da sonda, sendo representada pela área 3 (A_3).

Neste trabalho, o teste de perfil de textura efectuou-se usando penetração, com uma sonda de alumínio de 10 mm de diâmetro. O teste foi programado nas seguintes condições: velocidade de teste 1,00 mm/s, tempo de repouso entre a primeira e a segunda dentada 3s e profundidade de penetração da amostra 15 mm (50% da altura da amostra).

Foram assim obtidos gráficos força-tempo, através dos quais se calcularam os parâmetros dureza, adesividade, elasticidade e coesividade.



2.4.3. Análise Sensorial

A avaliação sensorial do produto foi efectuada de forma cuidada, por provadores pertencentes ao painel de análise sensorial do Instituto Superior de Agronomia, em regra em número de 5, segundo uma ficha de prova especialmente concebida para o efeito.

Com esta análise pretendeu-se avaliar um conjunto de características relevantes para o fim em vista, como a consistência, a facilidade em barrar, o nível de acidez e, no final, a opinião global sobre o produto, tendo em conta que se pretendia obter um queijo fresco de pasta fina e suave, com uma consistência distinta do queijo fresco tradicional e capacidade de barrar, e com um sabor ligeiramente ácido, sentindo-se assim a contribuição dos fermentos lácticos.

Deste modo, optou-se pela utilização de uma escala equidistante, de zero a dez pontos para cada descritor, sendo a consistência avaliada de muito mole (zero) a muito duro (dez), a facilidade em barrar de muito fácil (zero) a muito difícil (dez), e a acidez de não ácido (zero) a demasiado ácido (dez). A opinião global variou de extremamente desagradável (um), a extremamente agradável (nove). A ficha de prova descrita encontra-se em anexo .

A avaliação organoléptica, deve de ser feita em local adequado, se possível, isolado, para evitar perturbações na avaliação do provador. Deste modo, as provas decorreram na sala de provas existente no Instituto Superior de Agronomia.

Esta análise foi realizada no dia seguinte ao fabrico e três a quatro dias depois, após conservação em frigorífico, utilizando-se queijos escolhidos aleatoriamente nos lotes preparados na queijaria. O produto foi apresentado inteiro colocado em placa de Petri.

2.5.Tratamento dos Resultados

Os resultados das análises físico-químicas, do teste de perfil de textura e da análise sensorial, foram tratados pela Metodologia das Superfícies de Resposta, anteriormente referida, e pela Análise em Componentes Principais.

A Análise de Componentes Principais (ACP) é um dos métodos estatísticos mais usados quando se pretendem analisar dados multivariados. Esta metodologia permite transformar um conjunto de variáveis originais correlacionadas, num conjunto menor de variáveis independentes, que são combinações lineares das variáveis originais, designadas componentes principais.

A ACP é, geralmente, encarada como um método de redução dos dados mas, para além desta vantagem, permite também verificar se existe um pequeno número das primeiras componentes principais que seja responsável por explicar uma proporção elevada da variação total associada ao conjunto original. Este método de análise foi utilizado com o objectivo de avaliar a importância dos parâmetros, físico-químicos e de textura na aceitabilidade do produto.



3. Resultados e Discussão

3.1. Caracterização do leite

Nos dias de fabrico, foi recolhida uma amostra do leite utilizado, após a sua pasteurização. Esta amostra foi analisada sempre no dia seguinte ao fabrico, após conservação em frigorífico.

No dia da análise a amostra foi colocada a cerca de 35°C, homogeneizada e posteriormente colocada a uma temperatura de 20°C.

A acidez e o pH estão normalmente associados à qualidade higiénica do leite e à frescura do mesmo, sendo um bom indicador das condições de produção e conservação do leite.

O pH, é um dos factores mais importantes na coagulação enzimática do leite, sentindo-se a sua influência principalmente no tempo de coagulação e na consistência do gel.

O pH do leite de cabra varia entre 6,5 e 6,7. No entanto, deve ter-se em atenção o facto do leite armazenado durante um determinado período de tempo, mesmo refrigerado, pode apresentar valores de pH mais baixos, devido ao desenvolvimento de acidez por acção microbiana. Como se pode observar no Quadro V, no caso dos leites analisados o pH esteve sempre dentro dos valores normais esperados para o leite de cabra, não se verificando situações indicadoras de dificuldades a nível do processo de fabrico.

Quadro V - Quadro Resumo das análises físico – químicas efectuadas ao leite.

| Ensaio | pH | Acidez (mL NaOH N/L) | Densidade (20°C) | Resíduo Seco (g/100g) | Gordura (g/100g) | Proteína Bruta (g/100g) |
|--------|------|----------------------------|---------------------|-----------------------------|---------------------|-------------------------------|
| 1 | 6,63 | 15 | 1,0270 | 13,43 | 5,0 | 3,70 |
| 2 | 6,62 | 15 | 1,0260 | 12,31 | 4,5 | 3,38 |
| 3 | 6,64 | 18 | 1,0295 | 13,88 | 5,0 | 3,89 |
| 4 | 6,64 | 15 | 1,0300 | 14,28 | 5,0 | 3,57 |
| 5 | 6,56 | 15 | 1,0255 | 19,67 | - | 3,45 |
| 6 | 6,69 | 16 | 1,0285 | 11,55 | 4,45 | 3,13 |
| 7 | 6,68 | 14 | 1,0270 | 8,12 | 5,2 | 3,70 |
| 8 | 6,63 | 15 | 1,0270 | 13,43 | 5,0 | 3,70 |
| 9 | 6,62 | 15 | 1,0285 | 13,01 | 5,0 | 3,45 |
| 10 | 6,67 | 16 | 1,0280 | 13,54 | 5,1 | 4,40 |
| 11 | 6,68 | 15 | 1,0270 | 12,93 | 4,7 | 3,89 |

Quanto à acidez, o leite de cabra, quando obtido em boas condições de higiene e de animais sadios, apresenta valores de 13 a 15 ml de NaOH N/L leite, sendo a acidez o somatório da acidez natural do leite, relacionada com o teor de proteínas e de sais minerais e a acidez desenvolvida por acção



da flora microbiana. Os valores de acidez referidos, podem elevar-se consideravelmente, caso não se assegurem um conjunto de medidas que previnam a contaminação e o desenvolvimento dos microrganismos. Nas amostras analisadas, apenas o leite usado no ensaio 3, apresenta um valor de 18 ml de NaOH N/L leite, podendo indicar o começo de algum desenvolvimento microbiano (Quadro V).

Outra análise feita às amostras foi a determinação da densidade do leite. A densidade do leite depende dos componentes dissolvidos e em suspensão, do teor em matéria gorda e da temperatura. Considera-se a densidade normal entre 1,028 e 1,036, g/mL, a 20°C. Os leites de vaca e de cabra estão mais próximos do limite inferior e o de ovelha, mais rico em sólidos, do limite superior. Pela determinação de densidade é possível suspeitar se o leite foi desnatado ou aguado.

Quando a densidade é inferior a 1,028 g/mL suspeita-se de aguamento do leite, no entanto, a baixa densidade pode estar também relacionada com a produção animal, podendo existir deficiências na alimentação e consequentemente na produção de compostos lácteos que influenciam a densidade. Pelos valores apresentados no Quadro VII, o leite usado no ensaio 5 apresentou uma densidade de apenas 1,025 g/mL, um valor duvidoso face ao que foi referido, mas que não se conjuga com o valor do resíduo seco obtido para a mesma amostra, admitindo-se um erro experimental na determinação.

A matéria gorda está directamente ligada às diversas características físico-químicas e sensoriais do leite. O valor normal de gordura presente no leite de cabra situa-se entre 4 e 5 g/100g, pelo que os valores apresentados no Quadro V, mostram que os leites utilizados se encontram dentro dos valores habituais para este tipo de leite. Do mesmo modo, os teores em proteína bruta também parecem normais.



3.2. Características do queijo e tecnologia

Durante as semanas em que se procedeu à realização dos ensaios de fabricos, os queijos foram submetidos a análise físico-química, e avaliação sensorial e de textura, no dia seguinte ao seu fabrico e três a quatro dias depois, após conservação em frigorífico.

As análises físico-químicas realizadas aos vários ensaios de fabrico, permitiram perceber as diferenças entre os vários fabricos, relacionadas não só com as quantidades de coagulante e de fermento, mas também com a tecnologia utilizada, que apresentou algumas limitações em alguns dos fabricos.

3.2.1. Com um dia de conservação

Os fabricos correspondentes aos ensaios 1, 2 e 5, considerados típicos de pastas lácticas, uma vez que tinham quantidades elevadas de fermentos e a coagulação foi efectuada, num período de tempo prolongado (várias horas), foram os queijos que apresentaram o pH mais baixo, como apresentado no Quadro VI, sendo valores consistentes com a quantidade de fermento utilizada e com o tempo de coagulação suficiente para que este tivesse tempo para actuar. No entanto, a acidez destes fabricos é mais baixa do que a acidez registada nos fabricos 3, 4, 6 e 9, o que indica problemas no fabrico, possivelmente relacionados com um dessoramento deficiente, que produziu uma acidez excessiva. Em alguns casos, ainda, poderão ter-se verificado problemas de actividade do fermento láctico (fabricos 8, 10, 11), uma vez que a acidez desenvolvida não foi semelhante à obtida em condições de fabrico semelhantes.

O Quadro VI inclui ainda um conjunto de resultados de composição e características físico-químicas de um queijo obtido no comércio, de tipo aproximado ao que se pretende obter, verificando-se que foram os fabricos típicos de pastas lácticas que proporcionaram os queijos mais próximos do designado por “modelo”. Mesmo assim, as características deste estão de algum modo afastadas das características obtidas na generalidade dos ensaios.

Pode observar-se a variabilidade de composição do queijo resultante das diferentes modalidades de ensaio, na generalidade produtos com teores em humidade elevados, como é característico do queijo fresco, para mais com um processo de encinchamento sem esgotamento prévio do soro, mas sem tendência definida na relação com as proporções relativas de coagulante e de fermento láctico. A variabilidade acentuou-se quando os componentes (matéria gorda e proteína bruta) foram expressos em relação ao resíduo seco.



Quadro VI - Quadro Resumo, dos valores médios, das análises físico-químicas efectuadas ao queijo, com um dia de conservação.

| Ensaio | Coagulante (mL/100L) | Fermento (Un) | pH Final do Fabrico | pH 1 dia conservação | Acidez (% g queijo) | Humidade (g/100g) | Resíduo Seco (g/100g) | Gordura (g/100g) | Azoto Total (%) | Proteína Bruta (%) | Cloretos (gNaCl/100g) | Matéria gorda (g/100gRS) | Proteína Bruta (g/100gRS) |
|--------------------------|-------------------------|------------------|------------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| 1 | 2,3 | 0,2 | 4,25 | 4,56 | 6,4 | 67,34 | 32,66 | 17,5 | 1,93 | 12,29 | 0 | 37,63 | 53,58 |
| 2 | 2,3 | 0,9 | - | 4,51 | 6,0 | 69,29 | 30,71 | 18 | 1,89 | 12,07 | 0,59 | 39,30 | 58,61 |
| 3 | 8,8 | 0,2 | 6,34 | 5,45 | 7,6 | 65,41 | 34,59 | 18,5 | 2,12 | 13,53 | 0,53 | 39,12 | 53,48 |
| 4 | 8,7 | 0,9 | 6,04 | 4,86 | 11,2 | 65,62 | 34,38 | 17,5 | 2,24 | 14,27 | 0,70 | 41,51 | 50,90 |
| 5 | 1,0 | 0,5 | 4,14 | 4,51 | 6,0 | - | - | 17,3 | 2,23 | 14,20 | 0,53 | | |
| 6 | 10,0 | 0,5 | 6,36 | 5,33 | 8,0 | 67,86 | 32,14 | 21 | 2,14 | 13,67 | 0,64 | 42,53 | 65,34 |
| 7 | 5,5 | 0,0 | - | 6,77 | 1,2 | 71,93 | 28,07 | 13 | 1,74 | 11,10 | 0,82 | 39,54 | 46,31 |
| 8 | 5,5 | 1,0 | 5,86 | 5,42 | 5,2 | 68,83 | 31,17 | 15,6 | 1,79 | 11,45 | 0,18 | 36,73 | 50,53 |
| 9 | 5,5 | 0,5 | 6,39 | 5,10 | 6,8 | 73,23 | 26,77 | 17,5 | 1,97 | 12,60 | 0,53 | 47,07 | 65,37 |
| 10 | 5,5 | 0,5 | 6,13 | 5,76 | 3,6 | 72,91 | 27,09 | 12 | 2,10 | 13,43 | 0,64 | 49,58 | 44,30 |
| 11 | 5,5 | 0,5 | 6,39 | 6,61 | 1,2 | 69,81 | 30,19 | 18 | 2,25 | 14,35 | 0 | 47,53 | 59,62 |
| Queijo Modelo | - | - | - | 4,38 | 7,6 | 69,48 | 30,52 | 15,5 | 2,27 | 14,46 | 2,4 | 47,38 | 50,79 |



Esta variabilidade pode indicar algum carácter aleatório na retenção de componentes do leite no queijo dependendo da facilidade de dessoramento da coalhada, o que está, em geral, dependente do tipo de coagulação (Weber, 1987; Gaucheron *et al*, 2004).

Um aspecto que vale ainda a pena considerar é o teor do queijo em sal, dada a sua importância sobretudo a nível sensorial, por si e pelas interações com outras componentes sensoriais, mas também com outras implicações no queijo, designadamente a nível da acção microbiana. Logo desde o início dos ensaios tecnológicos, se verificou que a dosagem de sal na salga do queijo (equivalente a 2g/L de leite) proporcionava teores em cloretos no queijo, expressos em cloreto de sódio, muito baixos. A proporção de sal utilizada na salga foi corrigida duas vezes, para 3g/L leite e, finalmente, para 4g/L de leite a partir do ensaio 10, sem que isso evitasse os baixos teores em cloretos no queijo e mesmo o carácter variável dos resultados para este parâmetro. Provavelmente, o modo de encinchamento/dessoramento provocou o arraste do sal pelo soro, provocando a ineficácia do processo. Como se pode observar no Quadro VI, os teores em cloretos do queijo experimental foi muito inferior ao obtido para o produto comercial, existindo mesmo dois ensaios em que o queijo não acusou presença de cloretos.

O pH do queijo no final do fabrico e ao fim de 1 dia de conservação e, de certo modo, também a acidez, raramente atingiram os valores encontrados para o modelo, significando que, na maior parte dos ensaios, a coagulação foi de tipo diferente, com tempo insuficiente de acidificação e com forte intervenção enzimática, proporcionando propriedades da coalhada que podem explicar as diferenças principais a nível das características sensoriais e reológicas do queijo.

Pelo quadro resumo da análise sensorial (Quadro VII), é possível verificar que os queijos preferidos pelos provadores foram os produzidos por coagulação ácida ou por coagulação enzimática, ou seja associados a elevada doses de fermento e pouco coagulante, ou pouco fermento e dose mais elevada de coagulante. Situações de coagulação enzimática e adição de fermento activo (ensaios 4,6, 8, 9, 10, 11) não obtiveram, neste momento de consumo, boas indicações dos provadores, nomeadamente no que se refere aos principais objectivos para as características do produto, estrutura adequada, como se pode verificar pelos baixos valores de consistência atribuídos a alguns dos ensaios ou dificuldade em barrar, noutros casos. A opinião global foi mais positiva no caso dos ensaios típicos de coagulação enzimática ou de coagulação ácida, os extremos da combinação da variação dos factores em estudo.

O queijo modelo, apresenta uma opinião global positiva, semelhante à opinião global das pastas lácticas. Demonstrando que, os ensaios produzidos por coagulação ácida se assemelham ao produto modelo.



Quadro VII - Quadro Resumo da análise sensorial, um dia após conservação

| Ensaio | Coagulante (mL/100L) | Fermento (Un) | Consistência | Facilidade em Barrar | Ácido | Opinião Global |
|---------------|----------------------|---------------|--------------|----------------------|-------|----------------|
| 1 | 2,3 | 0,2 | 5,18 | 1,65 | 5,63 | 6,75 |
| 2 | 2,3 | 0,9 | 5,15 | 1,15 | 2,65 | 7,75 |
| 3 | 8,8 | 0,2 | 5,95 | 6,23 | 1,18 | 6,75 |
| 4 | 8,7 | 0,9 | 5,14 | 4,98 | 4,95 | 5,00 |
| 5 | 1,0 | 0,5 | 4,90 | 1,23 | 5,18 | 6,67 |
| 6 | 10,0 | 0,5 | 3,63 | 3,10 | 4,30 | 6,00 |
| 7 | 5,5 | 0,0 | 4,55 | 3,37 | 0,28 | 4,75 |
| 8 | 5,5 | 1,0 | 1,08 | 1,30 | 5,03 | 4,25 |
| 9 | 5,5 | 0,5 | 3,52 | 2,63 | 4,55 | 6,33 |
| 10 | 5,5 | 0,5 | 4,39 | 3,41 | 1,63 | 7,00 |
| 11 | 5,5 | 0,5 | 5,96 | 6,16 | 1,30 | 7,25 |
| Queijo Padrão | - | - | 4,43 | 3,01 | 3,90 | 6,75 |

Os queijos considerados mais consistentes pelos provadores na análise sensorial, os ensaios 1, 2 e 3 (Quadro VII), não foram os que apresentaram maiores valores de dureza, como se pode verificar pelos valores apresentados no Quadro VIII. Assim, ao contrário do que é, normalmente referido por diversos autores (Sousa, 1995), a dureza não correspondeu à consistência atribuída pelos provadores, provavelmente devido à influência do soro no interior do queijo, reflexo das dificuldades de dessoramento de algumas das coalhadas, predominantemente enzimáticas, que causa resistência à penetração da sonda na medição da dureza pelo texturómetro.

Quadro VIII - Quadro Resumo da análise reológica, um dia após conservação.

| Ensaio | Coagulante (mL/100L) | Fermento (Un) | Dureza (N) | Adesividade (N/s) | Elasticidade | Coesividade |
|---------------|----------------------|---------------|------------|-------------------|--------------|-------------|
| 1 | 2,3 | 0,2 | 0,63 | -2,19 | 0,98 | 0,51 |
| 2 | 2,3 | 0,9 | 0,80 | -2,46 | 0,97 | 0,49 |
| 3 | 8,8 | 0,2 | 0,90 | -3,15 | 0,96 | 0,50 |
| 4 | 8,7 | 0,9 | 1,19 | -3,25 | 0,99 | 0,42 |
| 5 | 1,0 | 0,5 | 1,15 | -4,21 | 0,98 | 0,53 |
| 6 | 10,0 | 0,5 | 1,09 | -0,29 | 0,88 | 0,39 |
| 7 | 5,5 | 0,0 | 1,05 | -0,76 | 0,95 | 0,38 |
| 8 | 5,5 | 1,0 | 1,22 | -0,12 | 0,83 | 0,52 |
| 9 | 5,5 | 0,5 | 1,10 | -0,75 | 0,94 | 0,35 |
| 10 | 5,5 | 0,5 | 0,71 | -0,01 | 0,89 | 0,41 |
| 11 | 5,5 | 0,5 | 1,59 | -0,88 | 0,93 | 0,39 |
| Queijo Modelo | - | - | 2,09 | -2,4 | 1 | 0,49 |



Uma referência para as características reológicas do queijo modelo, em particular para a dureza, muito superior à dos queijos dos ensaios realizados, o que pode evidenciar que no seu processo de fabrico se incluem operações que permitem um apuramento diferente das características finais.

3.2.2. Com 3 a 4 dias de conservação

Após 3-4 dias de conservação sob refrigeração, representando um segundo momento de consumo, os fabricos 9, 10 e 11 destacam-se pela subida mais acentuada da acidez, como aponta o Quadro IX, o que representa o consumo da lactose presente em função do soro retido no queijo por parte da flora láctica durante a conservação. No geral, verificou-se uma natural estabilização e uniformização da composição do queijo, em comparação com os resultados obtidos no início do período de consumo (1 dia de conservação), fruto da finalização do processo de dessoramento.

Nesta fase, a variabilidade diminuiu para praticamente todos os parâmetros, podendo dizer-se que, agora, a composição poderá reflectir melhor as determinantes dos ensaios. A composição relativamente ao resíduo seco poderá agora exprimir melhor as propriedades das coalhadas no que se refere ao dessoramento e retenção dos componentes; a variabilidade dos teores de proteína bruta e matéria gorda, referidos ao resíduo seco, é menor do que ao fim de 1 dia de conservação, mantendo-se, no entanto, algum do carácter aleatório das variações encontradas face aos factores que determinaram o desenho experimental.

Quanto à preferência dos consumidores, mantém-se pelos fabricos de coagulação ácida ou enzimática. Nos fabricos 9, 10 e 11, que apresentaram uma acentuada subida do valor de acidez, medida através da análise físico-química, também a acidez percebida pelo painel de provadores aumentou, como se pode observar comparando os valores dos Quadros VII e X.



Quadro IX - Quadro resumo, dos valores médios, das análises físico-químicas efectuadas ao queijo, com 3-4 dias de conservação.

| Ensaio | Coagulante (mL/100L) | Fermento (Un) | pH 1dia conservação | pH 3-4 dias conservação | Acidez (% g queijo) | Humidade (g/100g) | Resíduo Seco (%) | Matéria gorda (%) | Azoto Total (%) | Prot. Bruta (%) | Cloretos (gNaCl/100g) | Matéria gorda (g/100g RS) | Prot. Bruta (g/100g RS) |
|------------------|-------------------------|------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 2,3 | 0,2 | 4,56 | 4,60 | 6,8 | 66,15 | 33,85 | 18,5 | 2,08 | 13,29 | 0,00 | 54,65 | 39,26 |
| 2 | 2,3 | 0,9 | 4,51 | 4,56 | 6,4 | 68,52 | 31,48 | 17,5 | 2,07 | 13,20 | 0,88 | 55,59 | 41,93 |
| 3 | 8,8 | 0,2 | 5,45 | 6,36 | 4,4 | 70,02 | 29,98 | 18,5 | 1,93 | 12,34 | 0,00 | 61,71 | 41,16 |
| 4 | 8,7 | 0,9 | 4,86 | 5,09 | 7,6 | 64,15 | 35,85 | 18,0 | 2,31 | 14,76 | 0,64 | 50,21 | 41,17 |
| 5 | 1,0 | 0,5 | 4,51 | 4,44 | 6,0 | 69,01 | 30,99 | 15,0 | 1,99 | 12,72 | 0,53 | 48,40 | 41,05 |
| 6 | 10,0 | 0,5 | 5,33 | 5,04 | 8,4 | 72,93 | 27,07 | 19,0 | 2,65 | 16,89 | 0,82 | 70,56 | 62,39 |
| 7 | 5,5 | 0,0 | 6,77 | 6,24 | 1,2 | 76,74 | 23,26 | 15,0 | 1,29 | 8,21 | 0,70 | 64,49 | 35,30 |
| 8 | 5,5 | 1,0 | 5,42 | 4,99 | 6,2 | 69,46 | 30,54 | 15,5 | 1,73 | 11,06 | 0,23 | 50,75 | 36,21 |
| 9 | 5,5 | 0,5 | 5,10 | 4,84 | 12 | 67,74 | 32,26 | 17,5 | 2,17 | 13,83 | 0,47 | 54,25 | 42,87 |
| 10 | 5,5 | 0,5 | 5,76 | 5,33 | 7,6 | 69,44 | 30,56 | 20,5 | 2,00 | 12,77 | 0,94 | 67,08 | 41,79 |
| 11 | 5,5 | 0,5 | 6,61 | 6,24 | 2,8 | 63,87 | 36,13 | 18,8 | 2,19 | 13,97 | 0,00 | 51,90 | 38,67 |
| Queijo Modelo | - | - | 4,38 | 4,38 | 7,6 | 69,48 | 30,52 | 15,5 | 5,68 | 14,46 | 2,40 | 50,79 | 47,38 |



Também pela comparação entre os Quadros VII e X, é possível verificar que são vários os fabricos em que aumenta a facilidade em barrar. Estes valores salientam que um dessoramento deficiente conduz não só a um aumento da acidez, mas também eventualmente a alguma proteólise no interior do produto, levando a que, na análise sensorial, os provadores considerem que o produto tem maior facilidade e barrar. No entanto, esta facilidade advém da perda de estrutura interna do produto por via da proteólise ou da incorporação do soro na pasta do queijo, que se realça por uma estrutura pastosa em vez de uma estrutura granulosa, típica do efeito da acidificação durante o fabrico propriamente dito.

Quadro X - Quadro Resumo da análise sensorial, três a quatro dias após o fabrico.

| Ensaio | Coagulante (mL/100L) | Fermento (Un) | Consistência | Facilidade em Barrar | Ácido | Opinião Global |
|------------------|-------------------------|------------------|--------------|-------------------------|-------|-------------------|
| 1 | 2,3 | 0,2 | 5,83 | 1,47 | 3,63 | 7,67 |
| 2 | 2,3 | 0,9 | 5,30 | 0,98 | 2,84 | 8 |
| 3 | 8,8 | 0,2 | 5,40 | 4,8 | 5,1 | 7,33 |
| 4 | 8,7 | 0,9 | 5,67 | 3,03 | 4,3 | 5 |
| 5 | 1,0 | 0,5 | 4,87 | 1,52 | 5,13 | 8 |
| 6 | 10,0 | 0,5 | 1,84 | 1,44 | 5,78 | 6 |
| 7 | 5,5 | 0,0 | 5,83 | 5,25 | 0,43 | 6,33 |
| 8 | 5,5 | 1,0 | 0,78 | 0,84 | 4,53 | 3,75 |
| 9 | 5,5 | 0,5 | 3,99 | 3,71 | 6,19 | 6,5 |
| 10 | 5,5 | 0,5 | 2,38 | 1,5 | 3,29 | 5,75 |
| 11 | 5,5 | 0,5 | 7,19 | 6,2 | 0,89 | 6,5 |
| Queijo Modelo | - | - | 4,43 | 3,01 | 3,9 | 6,75 |

Pela análise do Quadro X, é necessário ter em atenção que embora o queijo modelo apresente uma facilidade em barrar, em geral mais baixa, do que os ensaios de fabrico, este facto aponta mais uma vez para a tecnologia usada, que no caso do queijo modelo, não revela retenção de soro no interior do produto evitando a proteólise interna e perda de estrutura

Quanto à análise reológica, a principal diferença regista-se na dureza que, em geral, diminui, como se pode constatar pela comparação entre os quadros VIII e XI. Esta diminuição, relaciona-se provavelmente com alguma perda de soro que ocorre durante o tempo, deixando este de ser um factor de intervenção na medição da dureza e, também, com o referido efeito da proteólise.



Quadro XI - Quadro Resumo da análise reológica, três a quatro dias após o fabrico.

| Ensaio | Coagulante (mL/100L) | Fermento (Un) | Dureza (N) | Adesividade (N/s) | Elasticidade | Coesividade |
|--------------------------|---------------------------------|--------------------------|-----------------------|------------------------------|---------------------|--------------------|
| 1 | 2,3 | 0,2 | 0,95 | -2,71 | 0,98 | 0,48 |
| 2 | 2,3 | 0,9 | 0,9 | -3,15 | 0,96 | 0,5 |
| 3 | 8,8 | 0,2 | 1,15 | 0,6 | 0,92 | 0,38 |
| 4 | 8,7 | 0,9 | 0,84 | 1,25 | 1 | 0,41 |
| 5 | 1,0 | 0,5 | 1 | 3,52 | 0,98 | 0,51 |
| 6 | 10,0 | 0,5 | 0,72 | -0,82 | 0,95 | 0,51 |
| 7 | 5,5 | 0,0 | 1,39 | 0,93 | 0,95 | 0,4 |
| 8 | 5,5 | 1,0 | 0,43 | -0,12 | 0,86 | 0,44 |
| 9 | 5,5 | 0,5 | 1,02 | -1,43 | 0,96 | 0,37 |
| 10 | 5,5 | 0,5 | 0,5 | -0,1 | 0,92 | 0,41 |
| 11 | 5,5 | 0,5 | 2,43 | -0,71 | 0,87 | 0,46 |
| Queijo Modelo | - | - | 2,09 | -2,4 | 1 | 0,49 |

A análise estatística dos resultados, nomeadamente a análise em componentes principais vai permitir perceber melhor a relação entre os parâmetros físico-químicos, de textura e sensoriais, bem como a sua influência na aceitabilidade o produto.



2.3. Análise Estatística

A análise estatística dos resultados obtidos durante o desenvolvimento deste trabalho foi primeiramente efectuada utilizando o método das superfícies de resposta, usado previamente no delineamento dos ensaios experimentais, recorrendo-se depois à Análise em Componentes Principais (ACP).

3.4.1. Método das Superfícies de Resposta

3.4.1.1. Com 1 Dia de Conservação

Os resultados obtidos nos ensaios de fabrico, foram analisados através do programa StatisticaTM, da Stasoft, versão 6, Tulsa, USA.

Este método permitiu testar mais de duas variáveis em simultâneo, quantidades de fermento e de coagulante utilizados, e identificar a sua influência nas características, físico-químicas, sensoriais e de textura do produto final.

Através dos resultados obtidos para cada uma destas características, nos 11 ensaios realizados, calcularam-se os efeitos lineares e quadráticos de cada factor e da interacção linear nessas respostas. Relativamente às variáveis físico-químicas, os factores estudados apenas tiveram algum efeito significativo no pH, acidez, azoto total e proteína bruta.

Como se pode avaliar pela análise do quadro XII, os valores baixos de R^2 , acompanhados de valores de R^2_{ajustado} próximos de zero, para os teores de matéria - gorda, resíduo seco e cloretos, confirmam a falta de ajuste dos modelos polinomiais testados.



Quadro XII – Valores dos efeitos lineares (L), quadráticos (Q) e da interação coagulante x fermento (C x F) para os diferentes parâmetros físico – químicos analisados, com 1 dia de conservação, e respectivos valores de R^2 e $R^2_{ajustado}$

| | pH | | Acidez | | Matéria Gorda | | Resíduo Seco | | Cloretos | | Azoto Total | | Proteína Bruta | |
|------------------|--------|---------|--------|--------|---------------|--------|--------------|--------|----------|--------|-------------|--------|----------------|--------|
| Factor | Efeito | p | Efeito | p | Efeito | p | Efeito | p | Efeito | p | Efeito | p | Efeito | p |
| Coagulante (L) | 0,60 | 0,25945 | 2,31 | 0,2582 | 1,45 | 0,4404 | 5,26 | 0,1096 | 0,20 | 0,4625 | 0,10 | 0,3596 | 0,67 | 0,3419 |
| Coagulante (Q) | -1,23 | 0,0792 | 4,48 | 0,0918 | 3,85 | 0,1204 | 1,13 | 0,7399 | 0,15 | 0,6330 | 0,11 | 0,3949 | 0,69 | 0,4055 |
| Fermento (L) | -0,63 | 0,2347 | 2,21 | 0,2754 | 0,85 | 0,6454 | 0,56 | 0,8454 | -0,04 | 0,8903 | 0,04 | 0,7278 | 0,25 | 0,7084 |
| Fermento (Q) | -0,06 | 0,9196 | 0,68 | 0,7638 | -0,90 | 0,6820 | 4,07 | 0,2622 | 0,07 | 0,8327 | -0,31 | 0,0533 | -1,97 | 0,0494 |
| C x F | -0,27 | 0,7024 | 2 | 0,4697 | -0,75 | 0,7718 | 0,87 | 0,8293 | -0,21 | 0,5786 | 0,08 | 0,6042 | 0,48 | 0,6189 |
| R^2 | 0,64 | | 0,62 | | 0,53 | | 0,52 | | 0,20 | | 0,68 | | 0,69 | |
| $R^2_{ajustado}$ | 0,27 | | 0,24 | | 0,06 | | 0,04 | | 0,00 | | 0,37 | | 0,38 | |



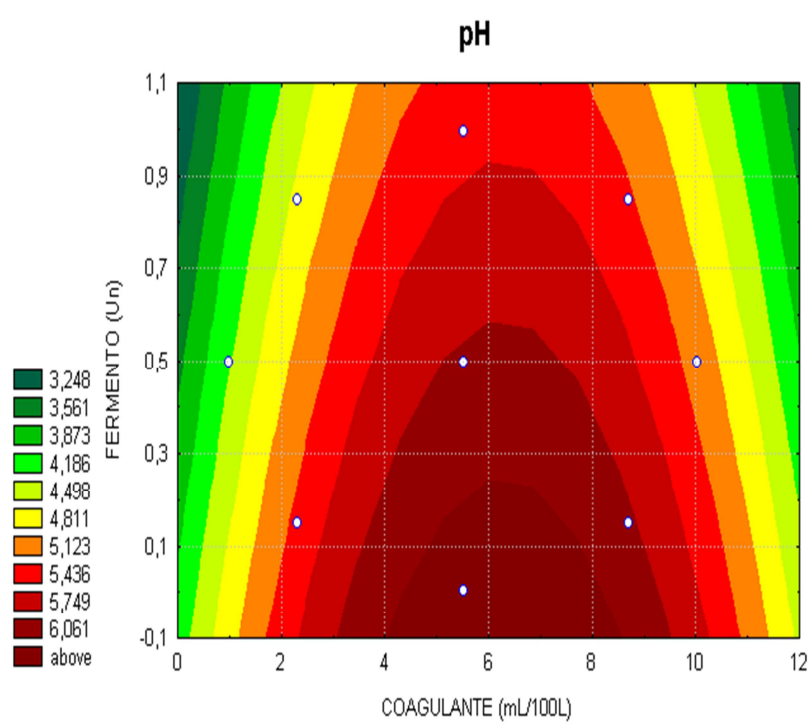
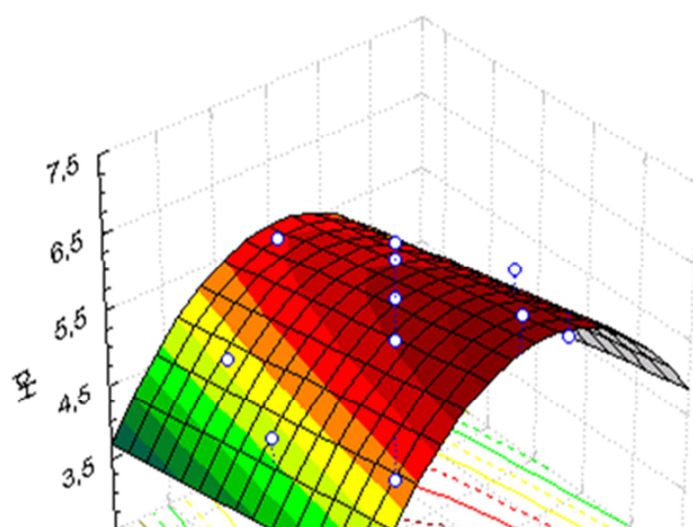
Na Figura 12 está representada a superfície de resposta relativa à variável pH e a sua respectiva projecção, após optimização do ajuste. Esta superfície é descrita pelo seguinte modelo polinomial de 2º grau:

$$\text{pH} = 3,94 + 0,747C - 0,059C^2 - 0,910F \quad (\text{eq.1})$$
$$(R^2=0,624; R^2_{\text{ajustado}}=0,463)$$

Onde o fermento (F), vem expresso em unidades (DSM) e o teor de coagulante (C) em mL/100L de leite.

Pela Figura 12 conclui-se que os queijos com pH mais baixo resultam de fabricos em que se combina baixa quantidade de coagulante e quantidade de fermento elevada ou combinação de coagulante e fermento em quantidade elevada.

Os fabricos com quantidade baixa de coagulante e elevada quantidade de fermento, são fabricos tipicamente lácticos, que ficaram a decorrer durante a noite, permitindo aos fermentos bastante tempo de actuação em cuba, e em que a coagulação se processou ao atingir o pI da caseína, correspondendo às colorações esverdeadas do gráfico. No caso de quantidades elevadas de coagulante e de fermento, tratam-se de fabricos enzimáticos ou mistos, ou seja, com predominância da coagulação enzimática com eventual contribuição da acção dos fermentos.



ERROR: ioerror
OFFENDING COMMAND: image

STACK: